

Peptide - asymmetrische Organokatalyse und molekulare Erkennung

Inauguraldissertation

zur Erlangung der Würde eines
Doktors der Philosophie

vorgelegt der
Philosophisch-Naturwissenschaftlichen Fakultät
der Universität Basel

von
Diplom-Chemiker

Philipp Krattiger

aus Oberdorf BL (Schweiz)

Basel 2005

Was wir wissen, ist ein Tropfen; was wir nicht wissen, ein Ozean.

Sir Isaac Newton

Genehmigt von der Philosophisch-Naturwissenschaftlichen Fakultät der Universität
Basel auf Antrag der Professoren:

Prof. Dr. Helma Wennemers

Prof. Dr. Andreas Pfaltz

Prof. Dr. Urs Séquin

Basel, den 08. Feb. 2005

Prof. Dr. Hans-Jakob Wirz

(Dekan)

Übersicht

Peptide – asymmetrische Organokatalyse und molekulare Erkennung

In der vorliegenden Dissertation wird im Teil A die Entwicklung und Anwendung der Methode der Katalysator-Substrat Co-Immobilisierung gezeigt. Die kombinatorische Methode zur Identifizierung von Katalysatoren in split-und-mix Bibliotheken wurde anhand einer einfachen Acylierungsreaktion entwickelt und evaluiert. Anschliessend wurde sie dazu verwendet um kurzkettige Peptide als Katalysatoren für asymmetrische Aldolreaktionen zu entwickeln. Die identifizierten Tripeptide H-L-Pro-L-Pro-L-Asp-NH₂ und H-L-Pro-D-Ala-D-Asp-NH₂ tragen jeweils ein sekundäres Amin und eine Carbonsäure in spezifischer Orientierung zueinander und erwiesen sich als effiziente Katalysatoren für asymmetrische Aldolreaktionen.

Im Teil B wird die Untersuchung und Anwendung wasserlöslicher Diketopiperazin-Rezeptoren vorgestellt. Die carbonsäurereichen Rezeptoren binden basische Tripeptide in wässrigen Lösungen selektiv. Die Komplexierung der Rezeptoren mit Tensiden führte nicht nur zu veränderten Bindungseigenschaften, die Komplexe zeigten auch flüssigkristalline Eigenschaften. Des weiteren wurden die Rezeptoren als Erkennungselemente auf Quarzkristalle aufgebracht und als Gassensoren eingesetzt.

Die vorliegende Arbeit wurde unter Anleitung von Prof. Dr. Helma Wennemers in der Zeit von März 2001 bis Februar 2005 am Departement Chemie der Philosophisch-Naturwissenschaftlichen Fakultät der Universität Basel durchgeführt.

Teile dieser Arbeiten wurden publiziert:

1. H. Wennemers, M. Conza, M. Nold, P. Krattiger „Diketopiperazine Receptors: A Novel Class of Highly Selective Receptors for Binding Small Peptides“, *Chem. Eur. J.* **2001**, 7, 3342-3347.
2. P. Krattiger, C. McCarthy, A. Pfaltz, H. Wennemers „Catalyst-Substrate Co-Immobilisation: A Strategy for Catalyst Discovery in Split-and-Mix Libraries“ *Angew. Chem. Int. Ed.* **2003**, 42, 1722-1724, *Angew. Chem.* **2003**, 115, 1763-1766.
3. P. Krattiger, R. Kovasy, J. Revell, S. Ivan, H. Wennemers „Increased Structural Complexity Leads to Higher Activity; Peptides as Efficient and Versatile Catalysts for Asymmetric Aldol Reactions“, *Org. Lett.* **2005**, 7, 1101-1103.
4. P. Krattiger, H. Wennemers “Water-soluble Diketopiperazine Receptors: Selective Recognition of Peptides in Aqueous Solution“, *Synlett*, **2005**, 4, 706-708.
5. J. W. Lörger, C. Kreutz, P. Krattiger, H. Wennemers, J. Bargon „Diketopiperazine Receptors: Highly selective layers for gravimetric sensors“, *Sensors and Actuators B: Chemical*, **2005**, 107, 366-371.
6. P. Krattiger, J. D. Revell, H. Wennemers „Using Catalyst-Substrate Co-immobilisation for the Discovery of Catalysts for Aldol Reactions in Split-and-Mix Libraries“, *QSAR Comb. Sci.*, **2005**, 24, 1158-1163.
7. J. D. Revell, D. Gantenbein, P. Krattiger, H. Wennemers „Solid-supported and Pegylated Pro-Pro-Asp as Catalysts for Asymmetric Aldol Reactions“, *Biopolymers (Pept Sci)*, **2005**, *Manuskript im Druck*.
8. C. F.J. Faul, P. Krattiger, H. Wennemers „Peptide-Based Smectic Liquid Crystals with Switchable Molecular Recognition Capabilities“, *Manuskript eingereicht*.
9. A. Stettler, P. Krattiger, H. Wennemers, M. Schwarz “Micro-Capillary-Electrophoresis on a Chip: A Tool for the Determination of Binding Constants“, *Manuskript in Vorbereitung*.

Teile dieser Arbeit wurden an den folgenden Veranstaltungen vorgestellt:

Vorträge:

1. „Ein neues Konzept für die Auffindung von Katalysatoren in split-und-mix Bibliotheken“ 11. Nachwuchswissenschaftlersymposium für bioorganische Chemie, Bonn, Deutschland, 18.-20. September 2002.
2. „A New Concept for the Discovery of Catalysts in Combinatorial Split-and-mix Libraries“ Herbstversammlung 2002 der Schweizerischen Chemischen Gesellschaft, Basel, 10. Oktober 2002.
3. „Peptides as Efficient Catalysts for Asymmetric Aldol Reactions“ Herbstversammlung 2004 der Schweizerischen Chemischen Gesellschaft, Zürich, 07. Oktober 2004.

Posterpräsentationen:

1. P. Krattiger, C. McCarthy, A. Pfaltz, H. Wennemers „A New Concept for the Combinatorial Search for Catalysts“ SFC Eurochem, Toulouse, Frankreich, 08.-11. July 2002.
2. P. Krattiger, C. McCarthy, A. Pfaltz, H. Wennemers „A New Concept for the Combinatorial Search for Catalysts“ 22. Regio-Symposium für organische und bioorganische Chemie, Falkau, Deutschland, 25.-27. September 2002.
3. P. Krattiger, C. McCarthy, A. Pfaltz, H. Wennemers “Catalyst-Substrate-Co-Immobilisation: A Strategy for the Discovery of Catalysts in Split-and-mix Libraries” 6. Deutsches Peptid Symposium, Berlin, Deutschland, 23.-26. März 2003.
4. P. Krattiger, C. F.J. Faul, M. Antonietti, H. Wennemers “From Water-Soluble Peptide Receptors to Liquid Crystals” 23. Regio-Symposium für organische und bioorganische Chemie, Falkau, Deutschland, 21.-24. September 2003.
5. P. Krattiger, C. F.J. Faul, M. Antonietti, H. Wennemers “From Water-Soluble Peptide Receptors to Liquid Crystals” Herbstversammlung 2003 der Schweizerischen Chemischen Gesellschaft, Lausanne, 9. Oktober 2003.
6. P. Krattiger, R. Kovasy, J. Revell, S. Ivan, H. Wennemers „Peptides as Efficient Catalysts for Asymmetric Aldol Reactions“, 24. Regio-Symposium für organische und bioorganische Chemie, Lucelle, Frankreich, 29. Sept. - 01. Okt. 2004 (2. Posterpreis).

Danksagung

Als erstes möchte ich mich ganz herzlich bei Prof. Dr. Helma Wennemers für die Unterstützung und Hilfe während der ganzen Zeit der Dissertation, für das mir entgegengebrachte Vertrauen und die gewährte Freiheit bedanken. Nicht zuletzt Ihre enthusiastische Art Fragen anzugehen und ihr Optimismus, haben zum Gelingen dieser Arbeit beigetragen.

Ein grosses Dankeschön gebührt meinen Laborkolleginnen und -Kollegen insbesondere Louis-Sebastian Sonntag, für ihre kritischen aber konstruktiven Diskussionen, das zahllose ausgeliehene Material und alles was sonst noch zu einem angenehmen Laboralltag gehört.

Dann möchte ich mich bei allen bedanken, mit denen ich das Vergnügen hatte in Kooperationen zusammenzuarbeiten, namentlich sind dies Dr. Cathy McCarthy und Prof. A. Pfaltz (Katalyse, Uni Basel), Dr. Charl Faul (Flüssigkristalle), Dr. Helmut Cölfen und Nadine Nassif (Biomineralisierung, alle MPI Golm), Dr. Jürgen Lörger und Prof. J. Bargon (Sensoren, Uni Bonn), Dr. Bernhard Spingler (Kristallisationen, Uni Zürich), die Arbeitsgruppe von Prof. König (Mikrokalorimetrie, Uni Regensburg) und nicht zuletzt Dr. Nikolay Youhnovsky, Iuliana Susnea und Prof. M. Przybylski (Massenspektrometrie, Uni Konstanz).

Bei Roman Kovàsy, Daniel Gantenbein, Matthias Christen und Michael Graber bedanke ich mich für ihre Hilfe im Rahmen von Diplomarbeiten bzw. Wahlpraktika.

Und dann wären da noch die ganzen guten Seelen im Institut, die zu zahlreich sind um einzeln aufgezählt zu werden, ohne die diese Arbeit aber nicht möglich gewesen wäre.

Als letztes, dafür aber umso herzlicher möchte ich mich bei meinen Eltern und Verwandten und meiner Freundin Jana Lubkoll, welche ich auch im Labor nicht missen musste, bedanken; ihre ganze mir entgegengebrachte Liebe und Unterstützung machte diese Arbeit erst möglich.

Inhaltsverzeichnis

Übersicht	v
Danksagung	ix
Inhaltsverzeichnis	x
A Allgemeiner Teil - Entwicklung von Tripeptiden als Katalysatoren für asymmetrische Aldolreaktionen mit Hilfe der Methode der Katalysator-Substrat Co-Immobilisierung	1
1. Einleitung Teil A	2
1.1 Peptide als Organokatalysatoren	2
2. Kombinatorische Chemie	4
2.1 Split-und-mix Synthese	4
2.2 Codierte kombinatorische Chemie	5
2.2.1 Polyhalogenierte aromatische Reportermoleküle	6
2.2.2 Synthese einer codierten split-und-mix Bibliothek	7
2.3 Screening einer codierten kombinatorischen Bibliothek	8
3. Die Methode der Katalysator-Substrat Co-Immobilisierung	9
3.1 Einführung	9
3.2 Bekannte Screening-Methoden	9
3.3 Konzept der Katalysator-Substrat Co-Immobilisierung	11
3.3.1 Überprüfung des Konzepts anhand einer Acylierungsreaktion	12
3.4 Untersuchung einer Bibliothek auf katalytisch aktive Mitglieder	14
3.5 Quantifizierung der Reaktivität mittels Experimenten in Lösung	16

4. Peptide als Katalysatoren für asymmetrische Aldolreaktionen	19
4.1 Einführung	19
4.2 Identifizierung katalytisch aktiver Tripeptide durch Katalysator-Substrat Co-Immobilisierung	21
4.3 Aldolreaktionen in Lösung	24
4.4 Untersuchung der Faktoren der katalytischen Effizienz	25
4.5 Konformationsanalysen	27
5. Zusammenfassung und Ausblick	29
 B Allgemeiner Teil – Wasserlösliche Diketopiperazin-Rezeptoren – Ihre Bindungseigenschaften und Anwendungen	 33
6. Einleitung Teil B	34
7. Diketopiperazin Rezeptoren	36
7.1 Synthese	37
7.2 Kombinatorische Bindungsexperimente	40
7.3 Bindungsaffinitäten der Rezeptor-Peptid Komplexe	42
8. Nichtkovalente Modifikationen der Rezeptoren	46
8.1 Stabilität der Rezeptor-Peptid Wechselwirkung auf fester Phase	46
8.2 Rezeptor-Tensid Komplexe	46
8.3 Flüssigkristalline Eigenschaften der Rezeptor-Tensid Komplexe	47
9. Diketopiperazin-Rezeptoren als Gassensoren	48
9.1 Theoretischer Hintergrund von Quarzmikrowaagen	48
9.2 Herstellung der Quarzmikrowaagen	48
9.3 Bindungsverhalten der Rezeptoren gegenüber Alkoholen	49
10. Zusammenfassung und Ausblick	52

C Experimenteller Teil	55
11. Geräte und Materialien	56
12. Allgemeine Protokolle	57
12.1 Protokolle der Festphasen-Synthese	57
12.1 a) Kupplungen auf Aminofunktionalisiertes Harz	57
12.1 b) Fmoc-Entschützung	57
12.1 c) Boc-Entschützung	57
12.1 d) Tag-Kupplung	57
12.1 e) Alloc-Entschützung	58
12.1 f) Entschützung von Bibliotheken	58
12.2 Protokoll für die kombinatorischen Acylierungsassays	58
12.3 Protokoll für die kombinatorischen Aldolassays	58
12.4 Protokoll der kinetischen NMR-Studien der Acylierungsreaktionen	59
13. Synthese der Bibliotheken	60
13.1 Synthese des zweiarmigen Linkers	60
13.1 a) Synthese des Linker-Fragments 2	60
13.1 b) Synthese des Linkers 3	61
13.2 Aufbau der Bibliothek mittels split-und-mix Synthese	61
13.2 a) Kupplung der ersten Aminosäure (64)	61
13.2 b) Kupplung der zweiten Aminosäure (65)	63
13.2 c) Kupplung der dritten Aminosäure (66)	64
13.2 d) Kupplung der vierten Aminosäure (67)	65
13.3 Funktionalisierung der Linker und Bibliotheken	67
13.3 a) Positiv-Kontroll-Harz 7	67
13.3 b) Negativ-Kontroll-Harz 8	68
13.3 c) Serinfunktionalisierte Tripeptidbibliothek 9	68
13.3 d) Ketonfunktionalisierte Tripeptidbibliothek 23	69

14. Synthese der farbstoffmarkierten Reaktionspartner B	70
14.1 Synthese des farbstoffmarkierten Aktivesters	70
14.1 a) Veretherung von Dispersrot (68)	70
14.1 b) Verseifung zur Carbonsäure 69	71
14.1 c) Herstellung des Aktivesters 6	72
14.2 Synthese des farbstoffmarkierten Aldehyds 24	73
14.2 a) Aktivierung von Dispersrot zum Mesylat 70	73
14.2 b) Nucleophile Substitution des Mesylats zum Azid 71	74
14.2 c) Staudinger-Reduktion des Azids zum Amin 72	75
14.2 d) Knüpfung der Amidbindung zum Benzaldehyd 24	76
15. Synthese der Peptide	77
15.1 Peptide für die Acylierungsreaktionen	77
15.1 a) Ac-L-His-NHPr · TFA (10)	77
15.1 b) Ac-L-Pro-L-His-NHPr · TFA (11)	78
15.1 c) Ac-L-His-L-His-NHPr · 2 TFA (12)	79
15.1 d) Ac-L-His-D-His-NHPr · 2 TFA (13)	80
15.1 e) Ac-L-Pro-L-His-L-His-NHPr · 2 TFA (14)	81
15.1 f) Ac-L-His-L-His-L-His-NHPr · 3 TFA (15)	82
15.1 g) Ac-L-Leu-L-His-L-His-NHPr · 2 TFA (16)	83
15.1 h) Ac-Gly-L-His-L-His-NHPr · 2 TFA (17)	84
15.1 i) Ac-L-Pro-L-Phe-NHPr (18)	85
15.2 Peptide für die Aldolreaktionen	86
15.2 a) H-L-Pro-D-Ala-D-Asp-NH ₂ (27)	86
15.2 b) H-L-Pro-L-Pro-L-Asp-NH ₂ (26)	87
15.2 c) H-D-Pro-L-Pro-L-Asp-NH ₂ (30)	88
15.2 d) H-L-Pro-D-Pro-L-Asp-NH ₂ (31)	89
15.2 e) H-D-Pro-D-Pro-L-Asp-NH ₂ (32)	90
15.2 f) H-L-Pro-L-Pro-OH (33)	91
15.2 g) H-L-Pro-D-Ala-D-Glu-NH ₂ · TFA (34)	91
15.2 h) H-L-Pro-Gly-D-Asp-NH ₂ (35)	92
15.2 i) H-L-Pro-Aib-D-Asp-NH ₂ · TFA (36)	93
15.2 k) H-L-Pro-D-Ala-OH · TFA (38)	94

16. Synthese und analytische Daten der Aldolprodukte	95
16. a) Generelle Prozedur für Aldolreaktionen in Lösung	95
16. b) 4-(S)-Hydroxy-4-(p-nitrophenyl)-butan-2-on (83)	95
16. c) 4-(S)-Hydroxy-4-phenylbutan-2-on (84)	96
16. d) 4-(S)-Hydroxy-4-cyclohexylbutan-2-on (85)	96
16. e) 4-(S)-Hydroxy-5-methylhexan-2-on (86)	97
16. f) 4-(R)-Hydroxy-6,6-dimethylheptan-2-on (87)	97
17. Synthese der wasserlöslichen Rezeptoren	98
17.1 Synthese der zweiarmligen Rezeptoren	98
17.1 a) Zweiarmliger Rezeptorvorläufer 73	98
17.1 b) Zweiarmliger Rezeptorvorläufer 74	99
17.1 c) Zweiarmliger Rezeptorvorläufer 75	100
17.1 d) Zweiarmliger succinylierter Rezeptorvorläufer 76	102
17.1 e) Zweiarmliger succinylierter Rezeptor 39	103
17.1 f) Zweiarmliger acetylierter Rezeptorvorläufer 77	104
17.1 g) Zweiarmliger acetylierter Rezeptor 40	106
17.2 Synthese des einarmigen Rezeptors	107
17.2 a) Boc-L-Tyr(DR)-NHPr (78)	107
17.2 b) Fmoc-L-Asp(O ^t Bu)-L-Tyr(DR)-NHPr (79)	108
17.2 c) Fmoc-L-Asp(O ^t Bu)-L-Asp(O ^t Bu)-L-Tyr(DR)-NHPr (80)	109
17.2 d) H-L-Asp(O ^t Bu)-L-Asp(O ^t Bu)-L-Tyr(DR)-NHPr (81)	110
17.2 e) Suc-L-Asp(O ^t Bu)-L-Asp(O ^t Bu)-L-Tyr(DR)-NHPr (82)	111
17.2 f) Suc-L-Asp-L-Asp-L-Tyr(DR)-NHPr (41)	112
18. Synthese der argininreichen Peptide	113
18. a) Ac-L-Arg-L-Arg-L-Arg-NHPr (56)	113
18. b) Ac-L-Arg-L-Arg-L-Ser-NHPr (57)	114
18. c) Ac-L-Arg-L-Ser-L-Arg-NHPr (58)	115

19. Isothermische Kalorimetrie	116
19. a) Bindungsaffinität zwischen Rezeptor 39 und Peptid 56	116
19. b) Bindungsaffinität zwischen Rezeptor 39 und Peptid 57	116
19. c) Bindungsaffinität zwischen Rezeptor 39 und Peptid 58	116
19. d) Bindungsaffinität zwischen Rezeptor 41 und Peptid 56	116
19. e) Bindungsaffinität zwischen Rezeptor 41 und Peptid 57	117
19. f) Bindungsaffinität zwischen Rezeptor 41 und Peptid 58	117
 D Abkürzungsverzeichnis	 118
 E Literaturverzeichnis	 120
 F Anhang	 127
20. Sequenzen der kombinatorischen Experimente	127
20.1 Gefundene Sequenzen in den Assays der Acylierungs- bibliotheken mit dem farbstoffmarkierten Aktivester 6	127
20.2 Gefundene Sequenzen in den Assays der Aldolbibliothek 23 mit dem farbstoffmarkierten Benzaldehydderivat 24	128
20.3 Gefundene Sequenzen in den Assays der Tripeptidbibliothek 55 mit den wasserlöslichen Rezeptoren 39-41	129
20.3 a) Sequenzen von 55 mit Rezeptor 39	129
20.3 b) Sequenzen von 55 mit Rezeptor 40	130
20.3 c) Sequenzen von 55 mit Rezeptor 41	130

Der Fortgang der wissenschaftlichen Entwicklung
ist im Endeffekt eine ständige Flucht vor dem Staunen.

Albert Einstein

Teil A

Entwicklung von Tripeptiden als Katalysatoren für
asymmetrische Aldolreaktionen mit Hilfe der
Methode der Katalysator-Substrat
Co-Immobilisierung

1. Einleitung Teil A

Die Entwicklung von hochaktiven und spezifischen Katalysatoren stellt eine der zentralen Aufgaben der modernen Chemie dar.

In den letzten Jahren wurden auf dem Gebiet der metallfreien Katalyse mit niedermolekularen Verbindungen, auch „Organokatalyse“ genannt, grosse Fortschritte erzielt. Unter den kleinen, rigiden Molekülen sticht vor allem Prolin durch die Breite der Anwendbarkeit aus der Menge der verwendeten Katalysatoren heraus.^[1]

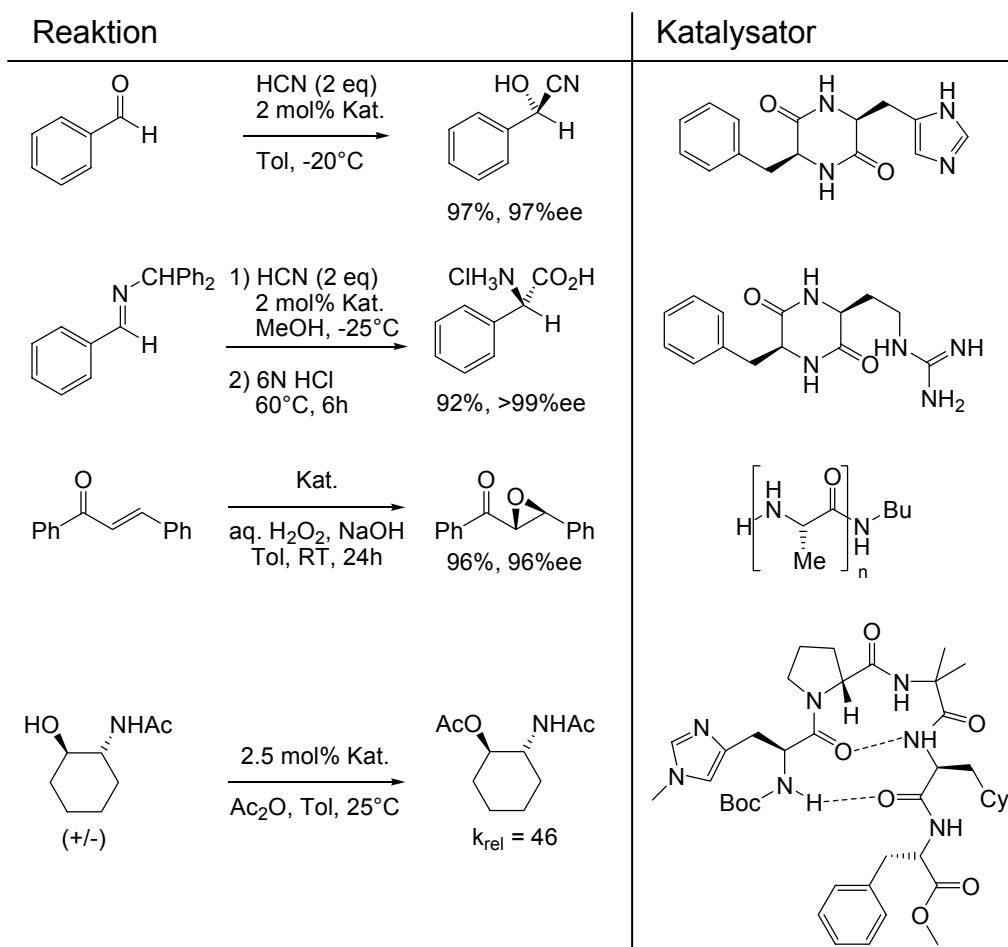
Die kleinen und vergleichsweise einfachen Strukturen der Organokatalysatoren, sind gleichzeitig für ihre Vorteile wie auch ihre Schwachpunkte verantwortlich. Die relativ einfach gebauten Verbindungen sind oft kommerziell erhältlich oder zumindest zu einem kleinen Preis in wenigen Schritten herstellbar. Gleichzeitig lässt diese Einfachheit aber auch wenig Spielraum für strukturelle Änderungen und erschwert die Anpassung dieser Organokatalysatoren an verschiedene Substrate.

Einen gänzlich anderen Weg hat die Natur mit ihren Katalysatoren im Laufe der Evolution beschritten. Die Enzyme wurden schrittweise für ihren Verwendungszweck optimiert. Dabei spielte der modulare Aufbau der hochkomplexen Strukturen aus den vergleichsweise einfachen 20 proteinogenen Aminosäuren eine wesentliche Rolle. Dieses Baukastensystem erlaubt Änderungen mit wenig Aufwand einzuführen und anschliessend den besten Kandidaten auszuwählen.

Die Kombination der Vorteile der beider Strategien, die Einfachheit der Strukturen und der modulare Aufbau um Änderungen einfach einzuführen, führt zu Anforderungen, wie sie z.B. kurzkettige Peptide erfüllen können. Peptide aus wenigen Aminosäuren sind mit einem akzeptablen synthetischen Aufwand herzustellen und gleichzeitig erlaubt das Baukastenprinzip eine grosse Variabilität der Strukturen.

1.1 Peptide als Organokatalysatoren

Obwohl die Anzahl der Anwendungen für peptidkatalysierte Reaktionen noch bescheiden ist, zeigt die Breite der Beispiele doch das Potential, welches diese Verbindungen besitzen. Die Möglichkeiten reichen dabei von Hydrocyanierungen^[2] oder Streckersynthesen^[3] über Epoxidierungen^[4] zu Acylierungen.^[5]



Schema 1: Beispiele asymmetrischer Organokatalyse mit Peptiden

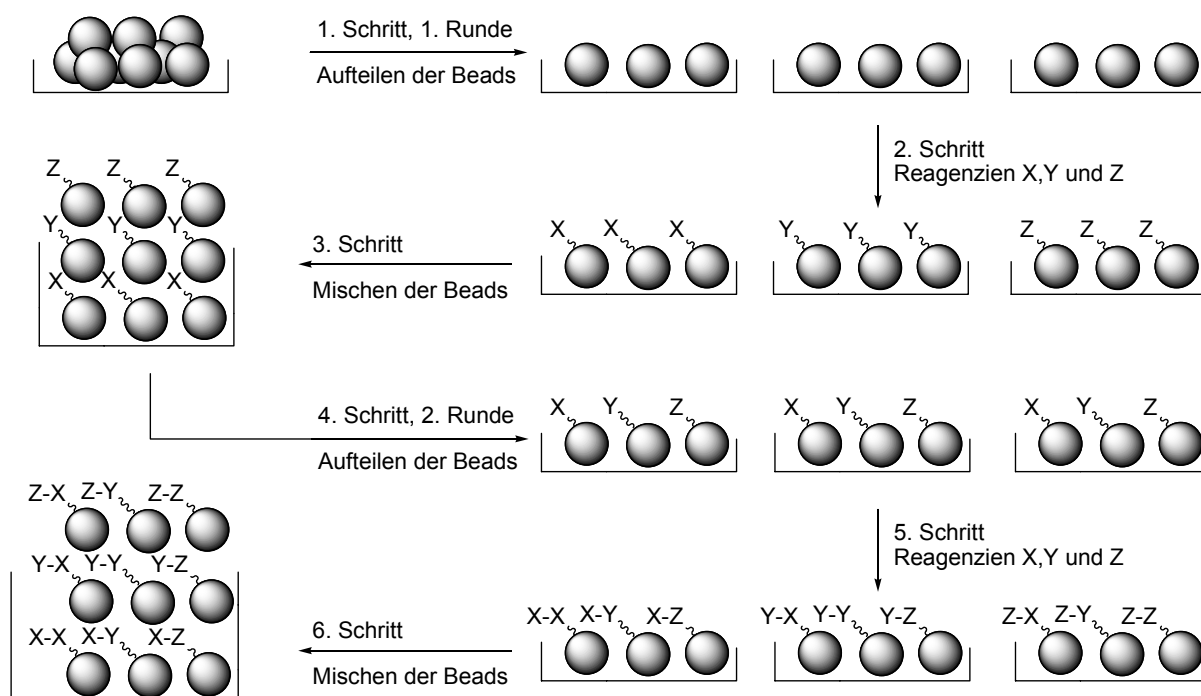
Die Voraussage der katalytischen Eigenschaften gestaltet sich allerdings mit Peptiden nicht einfach. Das rationale Design stellt trotz grosser Fortschritte im Bereich der computergestützten Berechnung noch immer eine enorme Herausforderung dar, so dass der Entwicklungsprozess oft langwierig und arbeitsintensiv ist. Viel eleganter als die konventionelle zeit- und arbeitsintensive Synthese vieler potentieller Katalysatoren und die parallele Untersuchung der Substanzen, ist die simultane Herstellung und Untersuchung zahlreicher Mitglieder von split-und-mix Bibliotheken.^[6-10]

Im Teil A dieser Dissertation wird die Entwicklung und Anwendung einer neuen, allgemeinen Methode zur Untersuchung von split-und-mix Bibliotheken auf katalytisch aktive Mitglieder präsentiert. Die Umsetzbarkeit der Methode wird dabei als erstes anhand einer einfachen Acylierungsreaktion gezeigt, anschliessend wird die Methode angewandt, um Tripeptide als Katalysatoren für asymmetrische Aldolreaktionen zu entwickeln.

2. Kombinatorische Chemie

2.1 Split-und-mix Synthese

Die kombinatorische Chemie kann als eine chemische Interpretation des natürlichen Evolutionsprozesses verstanden werden. Statt konventionell eine Verbindung nach der anderen zu synthetisieren, wird eine grosse Anzahl von verschiedenen Verbindungen zur selben Zeit hergestellt und anschliessend werden die besten Verbindungen selektioniert. Unter den verschiedenen Strategien^[11-17] zur Generierung molekularer Vielfalt, ist die Synthese von „one-bead-one-compound“ Bibliotheken^[18] mittels split-und-mix Synthese eine der elegantesten und effektivsten.^[14-16,19]



Schema 2: Prinzip der split-und-mix Synthese, veranschaulicht anhand der Synthese eine Bibliothek von neun Verbindungen.

Dabei wird eine Harz-Probe in x gleiche Teile aufgeteilt (Schritt 1) und jede der Portionen wird mit je einem anderen Baustein funktionalisiert (Schritt 2). Nach der Reaktion werden die Portionen vereinigt und gut durchmischt (Schritt 3), um anschliessend für eine neue Runde erneut in y Portionen aufgeteilt zu werden (Schritt 4).

Nun wird das modifizierte Harz erneut mit je einem Baustein pro Portion funktionalisiert (Schritt 5). Werden im ganzen n Runden mit je x verschiedenen Bausteinen durchgeführt, erhält man mit x^n verschiedenen Substanzen sehr schnell eine sehr hohe Diversität. Im Beispiel von Schema 2 werden in zwei Runden ($n = 2$) je 3 Bausteine ($x = y = 3$) verwendet, dabei entstehen in sechs Reaktionen ($2 \times 3 = 6$) neun verschiedene Dimere ($3^2 = 9$).

Prinzipbedingt, da ein Polymerkügelchen zu einer bestimmten Zeit immer nur in einem Reaktionsgefäß sein kann, befindet sich immer nur eine Substanz auf einem Bead (one-bead-one-compound). Obwohl sich Aminosäuren hervorragend eignen, können jegliche Arten von Bausteinen verwendet werden, sofern sie sich mit hohen Ausbeuten kuppeln lassen.

2.2 Codierte kombinatorische Chemie

Da sich auf einem Bead eine Substanzmenge von etwa 100 pmol befindet, müssen die Methoden zur Identifizierung der Substanz auf einem Bead entsprechend ausgefeilt und empfindlich sein. Im Falle von Peptiden lässt sich die Sequenz mittels Edman-Abbau,^[20] bei Oligonucleotiden mittels PCR (polymerase chain reaction) Techniken aufklären. Sind die Moleküle aber nicht sequenzierbar, so ist die Analyse um einiges schwieriger. Obwohl es Beispiele von Analysen mittels Massenspektrometrie^[21-23] oder ^1H - und ^{13}C -NMR-Spektrometrie^[24,25] gibt, ist es damit nur schwer möglich zwischen Stereoisomeren zu unterscheiden. Weiter resultieren unvollständige Reaktionen während der Synthese der Bibliothek in Mischungen, welche nur mit viel Aufwand zu analysieren sind.

Aus diesem Grund wurden verschiedene Codierungsmethoden entwickelt. Das Prinzip der Codierung ist, dass sogenannte Reportermoleküle (tag) während der Synthese der Bibliothek mit auf die Beads aufgebracht werden, um zu einem späteren Zeitpunkt abgespalten und analysiert zu werden.^[26] Die Reportermoleküle dokumentieren damit die synthetische Geschichte jedes einzelnen Beads.

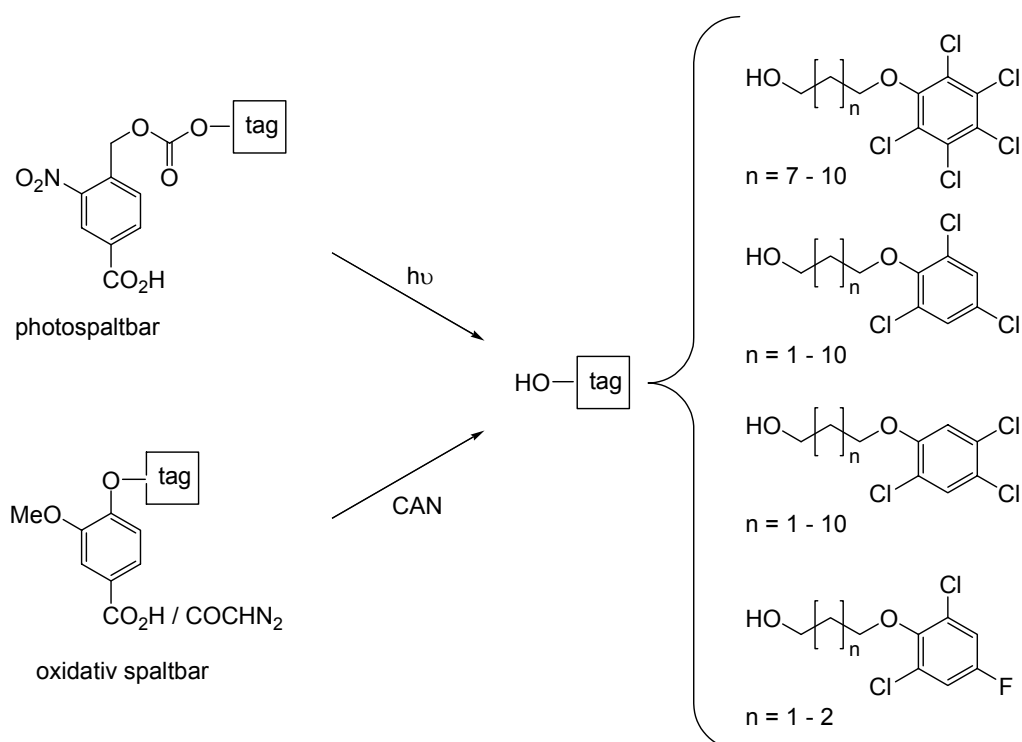
Die ersten Codierungsmethoden basierten auf sequenzierbaren Oligonucleotiden (DNS)^[27] oder Peptiden.^[28]

Beide Methoden sind allerdings nur in bestimmten Fällen geeignet, so können Peptid-Codons selbst Wechselwirkungen mit Gastmolekülen eingehen, vorallem DNS hält vielen Reaktionsbedingungen nicht stand und der Edman-Abbau von Peptiden ist zeitaufwendig. Deshalb wurden Reportermoleküle entwickelt, welche

unter den oft verwendeten chemischen Reaktionsbedingungen stabil und wesentlich effizienter zu analysieren sind.

2.2.1 Polyhalogenierte aromatische Reportermoleküle

Die polyhalogenierten aromatischen Alkohole aus Schema 3 erfüllen dabei alle für Reportermoleküle wichtige Kriterien; sie sind chemisch inert, einfach aufzubringen und wieder abzuspalten und können einfach und in geringsten Mengen analysiert werden.^[29,30]



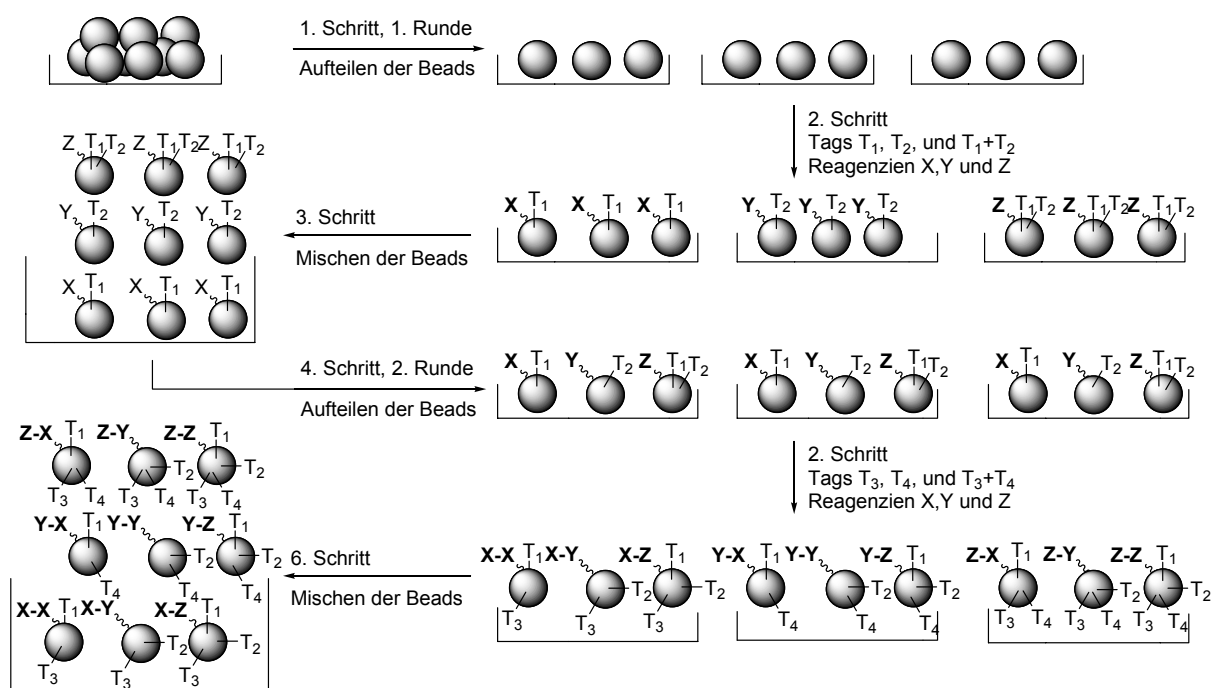
Schema 3: Oxidativ- und photospaltbare Linker und die Alkohole der tag-Moleküle.

26 verschiedene Reportermoleküle können im Gaschromatographen mit Elektroneneinfang-Detektion (GC-ECD) in 10 min. getrennt und analysiert werden. Die Unterschiedlichen Retentionszeiten beruhen dabei auf strukturellen Unterschieden wie der Länge der Alkylkette und dem Substitutionsmuster des halogenierten Aromaten. Als Anker zur Festphase kann ein photolabiler oder ein oxidativ spaltbarer Linker verwendet werden. Der photolabile Linker basiert dabei auf einem *ortho*-Nitrobenzylcarbonat,^[29] während Vanillinsäure^[30] für den oxidativ spaltbaren Linker verwendet wird, letzterer wird mittels Oxidation durch Cer Ammonium Nitrat (CAN) gespalten. Beide Linker verfügen über eine Carbonsäure, mit welcher sie während der Bibliothekssynthese über Amid- oder Esterbindungen auf die Beads gebunden

werden können. Mit den oxidativ spaltbaren Linkern können die tag-Moleküle alternativ über eine Carben-Insertion direkt an das Polystyrol-Grundgerüst der Beads gebunden werden, d.h. in diesem Fall sind keine bestimmte funktionelle Gruppen notwendig.

2.2.2 Synthese einer codierten split-und-mix Bibliothek

Wie in Schema 4 abgebildet, wird für jede Portion und dementsprechend für jeden Baustein ein bestimmtes Muster von Reportermolekülen verwendet, im weiteren für jeden Schritt ein anderer Satz von Reportermolekülen.



Schema 4: Prinzip der codierten split-und-mix Synthese, veranschaulicht anhand der Synthese einer Bibliothek von 9 Dipeptiden.

Die Verwendung eines binären Codierungsmusters erlaubt dabei mit der pro Synthesestufe zur Verfügung stehenden Anzahl Reportermolekülen (N) theoretisch 2^N verschiedene Bausteine zu verwenden.^[29] In der Praxis werden allerdings nur $2^N - 1$ Kombinationen genutzt, um ein Muster ohne Reportermoleküle zu vermeiden. Mit dieser binären Codierung können mit den zur Verfügung stehenden 26 Reportermolekülen weitaus mehr als 26 Bibliotheksmitglieder codiert werden. Wird z.B. ein Satz von 31 verschiedenen Bausteinen in jeweils drei Positionen verwendet, so können die sich daraus ergebenden $31^3 = 29'791$ Mitglieder mit $3 \times 5 = 15$ tags (3 Positionen, 5 tags pro Position à 31 verschiedene Bausteine) codiert werden.

2.3 Screening einer codierten kombinatorischen Bibliothek

Ein effizienter Weg zur simultanen Untersuchung aller Mitglieder einer kombinatorischen Bibliothek ist das „on-bead“ screening. Diese Methode erlaubt die Detektion von Beads mit „interessanten“ Verbindungen durch eine einfache visuelle Detektion der Beads. Für die Detektion einer selektiven Wechselwirkung zwischen z.B. einem Rezeptor und den Mitgliedern der Bibliothek wird eine Lösung eines Farbstoff-, Fluorophor- oder radioaktiv markierten Rezeptors mit der Bibliothek vermischt. Nach der Equilibrierung werden im Falle von Farbstoff- oder Fluoreszenzmarkierungen^[31] die Bead mittels eines Mikroskops untersucht, dabei reicht eine Vergrößerung von 10-40x. Radioaktive Markierungen können mit photographischen Techniken oder Mikroradiographie nachgewiesen werden.^[32-34] Beads, welche die Markierung zeigen, werden isoliert, ihre Reportermoleküle werden abgespalten und mittels GC-ECD analysiert.

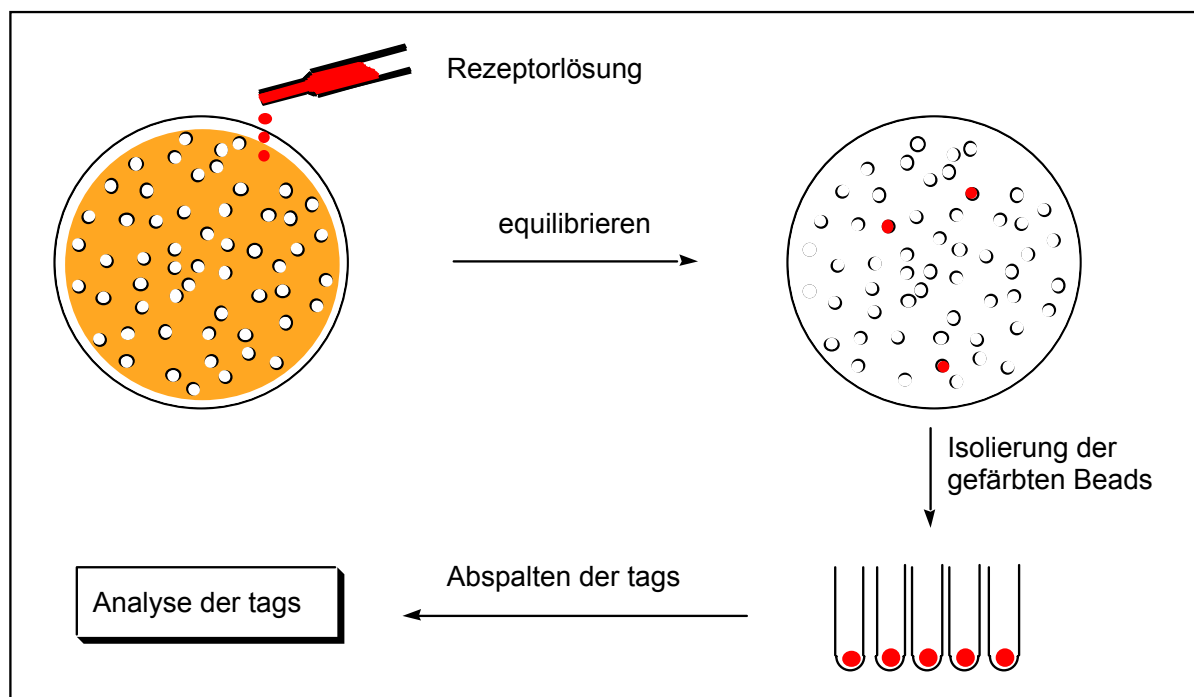


Abbildung 1: „On-bead“ screening einer codierten kombinatorischen Bibliothek gegen einen farbstoffmarkierten Rezeptor.

Um möglichst alle Mitglieder einer Bibliothek testen zu können, benutzt man mindestens drei theoretische Kopien pro Screening.^[35,36] Die Verwendung von z.B. 1000 Beads einer Bibliothek mit 1000 Mitgliedern würde sonst dazu führen, dass viele Mitglieder nicht getestet würden.

3. Die Methode der Katalysator-Substrat Co-Immobilisierung^[37]

3.1 Einführung

Während der Einsatz von split-und-mix Bibliotheken für Bindungsexperimente in den letzten Jahren zur Routine geworden ist, sind die Beispiele für die Identifizierung von Katalysatoren aus split-und-mix Bibliotheken noch immer selten. Dies liegt vor allem daran, dass im Gegenteil zu Affinitätsscreenings eine freie Diffusion der Reaktionsprodukte zwischen den Beads herrscht. Die Identifikation der aktiven Bibliotheksmitglieder kann darum nicht über die frei diffundierenden Reaktionsprodukte erfolgen.

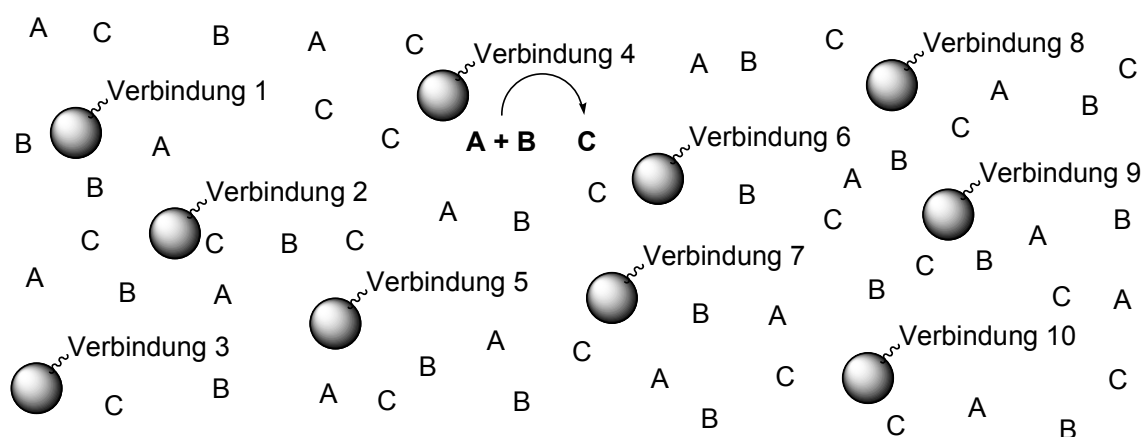
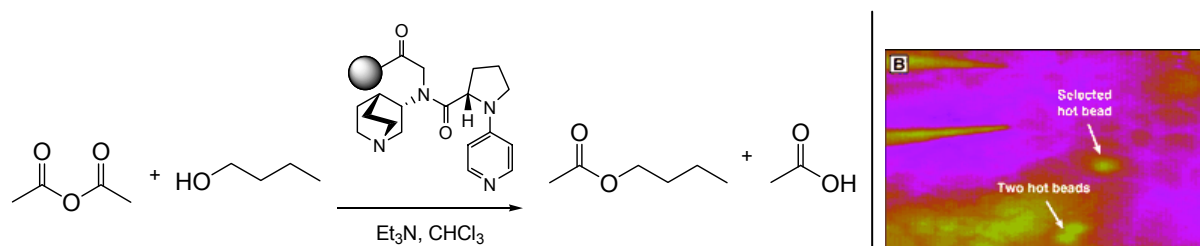


Abbildung 2: Effekt der freien Diffusion; obwohl nur Verbindung 4 katalytisch aktiv ist, sind die Reaktionsprodukte C in der ganzen Lösung verteilt.

3.2 Bekannte Screening-Methoden

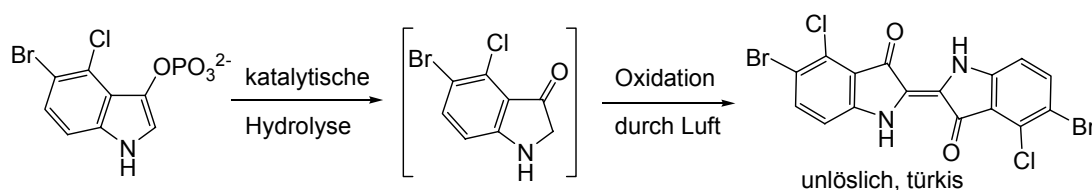
Bereits entwickelte Methoden beruhen auf colorimetrischen Screenings,^[8] der Verwendung von pH-Indikatoren^[10] und der IR-Thermographie.^[7]



Schema 5: IR-thermographisches Screening nach Morken *et al.*^[7]

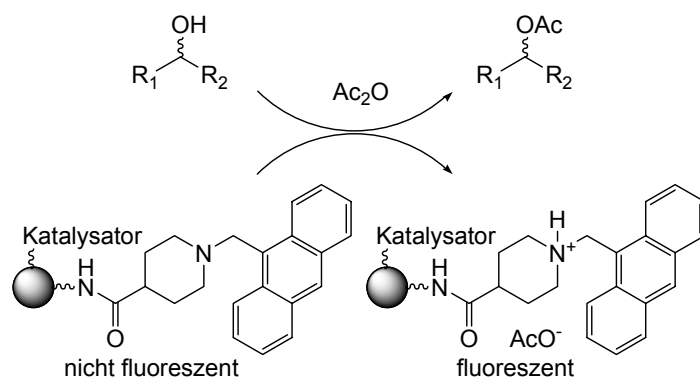
Die IR-Thermographie^[7] beruht dabei auf der Messung von Reaktionsenergien. Die on-bead Assays werden dazu mit einer IR-Kamera verfolgt, und die Beads mit der grössten Temperaturänderung isoliert.

Die Colorimetrische Methode^[8] wurde für die Identifizierung von hydrolytisch aktiven Katalysatoren verwendet. Die untersuchte Hydrolyse von Phosphorsäureestern von Indolderivaten, führt dabei zu Hydroxyindolen, welche an der Luft zum unlöslichen Indigo dimerisieren. Beads mit hydrolytisch aktiven Katalysatoren färbten sich entsprechend türkis.



Schema 6: Colorimetrisches Screening nach Berkessel *et al.*^[8]

Die Verwendung von pH-Indikatoren^[10] beruht auf der stark verlangsamten Diffusion in Gelen. In Acetylierungsreaktionen konnte damit die Änderung des pH-Wertes im Bereich um katalytisch aktive Beads mit fluoreszierenden pH-Indikatoren sichtbar gemacht werden.



Schema 7: Einsatz von Gelen und pH-Indikatoren nach Miller und Davies *et al.*

Mit Ausnahme der apparativ aufwändigen IR-Thermographie sind die Methoden aber nur in Spezialfällen anwendbar. Entweder sind die Reaktionsprodukte unlösliche Farbstoffe oder man bedient sich Indikatoren, welche auf eine pH-Änderung ansprechen.

3.3 Konzept der Katalysator-Substrat Co-Immobilisierung^[37]

Unser Ziel war eine Methode zu entwickeln, mit welcher sich die Vorteile kombinatorischer Bibliotheken für die Suche nach Katalysatoren für prinzipiell alle bimolekularen Reaktionen ausnutzen lassen.

Die Idee beruht auf der Co-Immobilisierung der Reaktionskomponente A, dem Substrat mitsamt dem potentiellen Katalysator auf dem Polymerkügelchen. Dazu wird ein zweiarmiger Linker verwendet. Eine Reaktion mit einer Farbstoff-, Fluorophor- oder radioaktiv markierten Reaktionskomponente B, welche zu einer kovalenten Bindung zwischen A und B führt, immobilisiert damit die Reaktionskomponente B und gleichzeitig deren Markierung. Die Markierung wird somit kovalent auf diejenigen Beads gebunden, welche die katalytisch aktiven Bibliotheksmitglieder tragen.

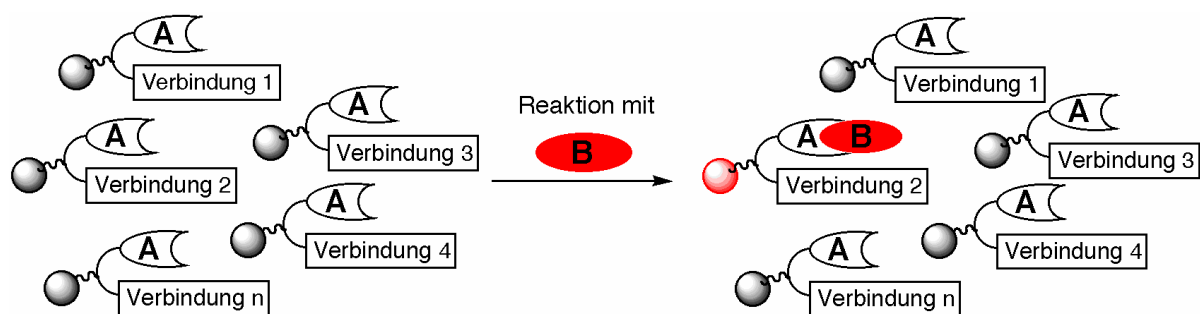


Abbildung 2: Prinzip der Katalysator-Substrat Co-Immobilisierung, nur Verbindung 2 ist katalytisch aktiv.

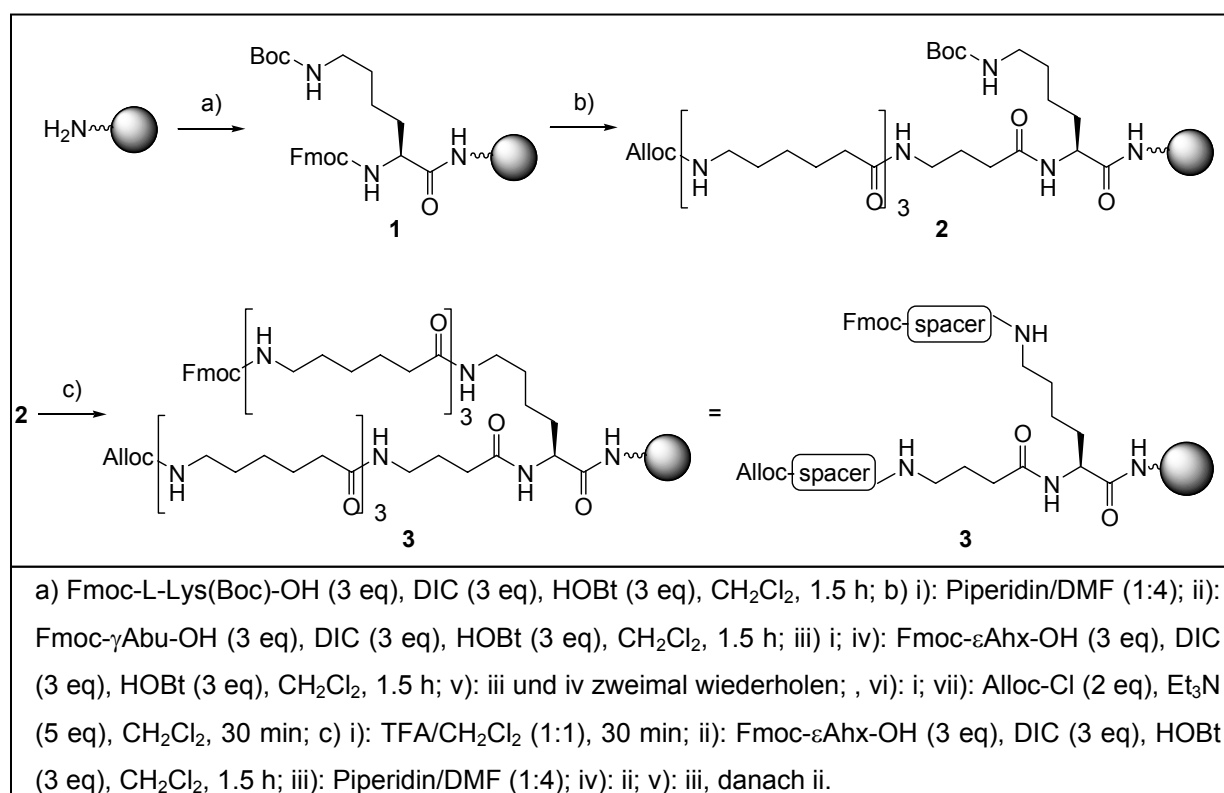
Damit ein solches Konzept funktioniert, müssen verschiedene Bedingungen erfüllt sein:

1. Der zweiarmige Linker muss flexibel und lang genug sein, damit sich der Reaktionspartner A, ähnlich wie in Lösung, gegenüber dem Katalysator frei ausrichten kann. Ansonsten könnte eine Reaktion unmöglich sein oder nur aufgrund der erzwungenen Nähe ablaufen.
2. Die Markierung des Reaktionspartners B darf keinen Einfluss auf die Reaktivität von B haben oder gar selbst reagieren.
3. Es muss sichergestellt werden, dass eine Reaktion zwischen A und B nur auf dem Bead stattfindet, welches auch den aktiven Katalysator trägt, Kreuzkatalyse darf nicht auftreten.
4. Auf dem einen Arm des Linkers muss sich eine split-und-mix Bibliothek aufbauen lassen.

Sind alle diese Bedingungen erfüllt, so ist das Konzept prinzipiell auf alle bimolekularen Reaktionen anwendbar, bei denen mindestens ein Atom kovalent an den Reaktionspartner A gebunden wird. Im Falle der Übertragung eines einzigen Atoms ist eine Markierung nur möglich, indem ein radioaktives Isotop eingesetzt wird.

3.3.1 Überprüfung des Konzepts anhand einer Acylierungsreaktion

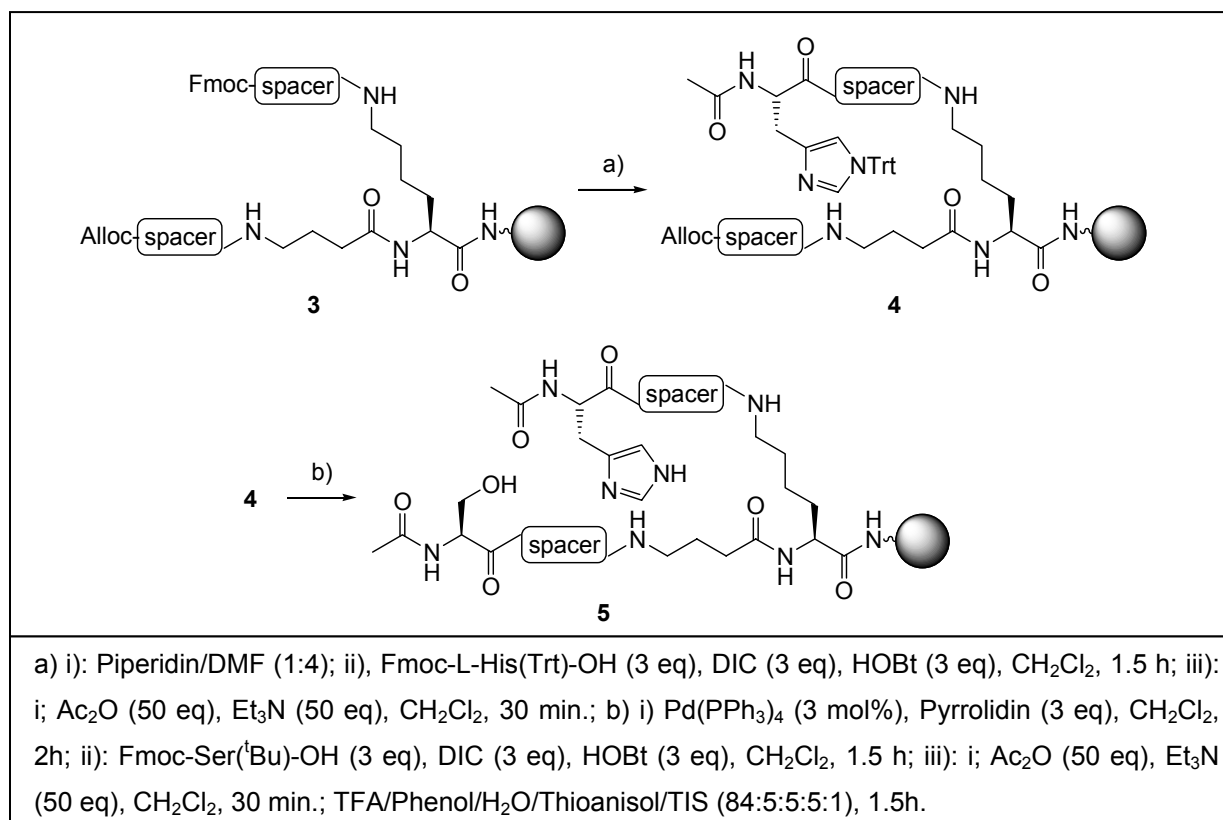
Als einfache Testreaktion für die Überprüfung des Konzepts der Katalysator-Substrat Co-Immobilisierung wurde eine Acylierungsreaktion ausgewählt. Histidin sollte die Reaktion zwischen einem Alkohol als Reaktionspartner A und einem Farbstoff-markierten Pentafluorophenylester als Reaktionspartner B katalysieren, da Imidazol, wie auch Histidin bekannte Acylierungskatalysatoren^[38] sind.



Schema 8: Synthese des zweiarmigen Linkers

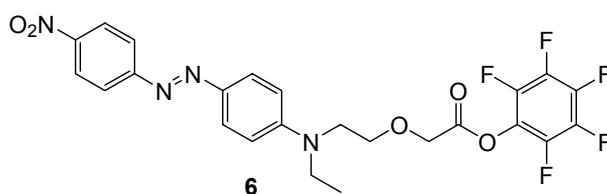
Für die Testexperimente, wie auch für die Bibliothek, wurde TentaGel als Trägermaterial verwendet, da es sowohl in organischen als auch in wässrigen Lösungsmitteln schwillt. Als zweiarmigen Linker wurde Lysin verwendet. Dessen Seitenkette wurde mit drei Einheiten Aminocapronsäure verlängert. Auf die α-Aminogruppe wurde eine Aminobutansäure- und drei Aminocapronsäure Einheiten aufgebracht, um eine freie Ausrichtung von Reaktionspartner A und dem potentiellen

Katalysator zu ermöglichen. Die Kupplungen erfolgten entsprechend dem Fmoc-Protokoll^[43] mit DIC und HOBT. Mit kürzeren Spacern von jeweils 1-3 Aminocaprinsäure Einheiten wurden die gleichen Reaktivitäten festgestellt, was zeigte, dass der Einfluss vernachlässigbar ist.^[39]



Schema 9: Funktionalisierung des zweiarmigen Linkers

Der primäre Alkohol von Serin diente als Reaktionspartner A, als markierter Reaktionspartner B wurde ein Dispers-Rot markierter Pentafluorophenylester **6** eingesetzt. Dispers-Rot wurde verwendet, da es chemisch inert ist und eine hohe Absorption hat.



Schema 10: Struktur des farbstoffmarkierten Aktivesters **6**

Die Untersuchung von zwei codierten Harzsorten, jeweils mit Serin als Reaktionspartner A auf dem einen Arm, einmal mit (Harz **7**) und einmal ohne ein

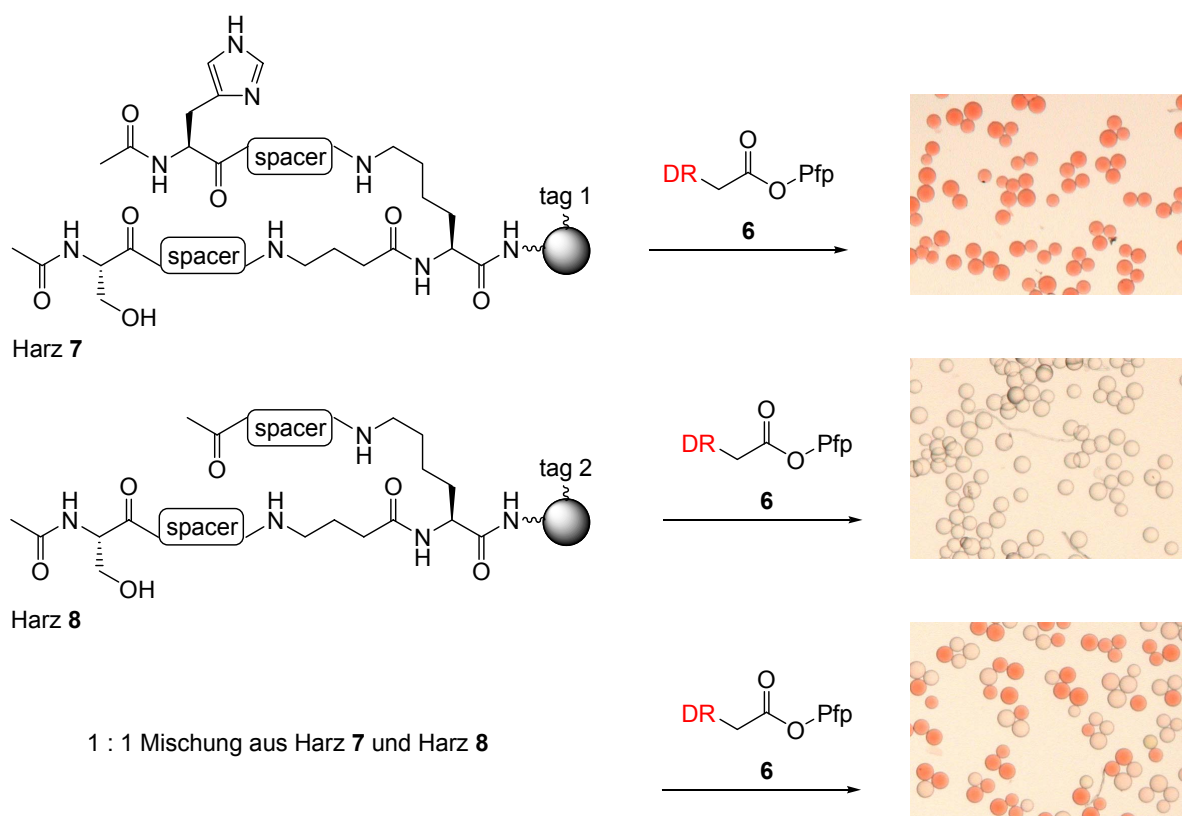


Abbildung 3: Untersuchung der Kreuzkatalyse.

Histidin (Harz 8) als Katalysator auf dem anderen Arm erlaubte die Kreuzkatalyse zu untersuchen. Gab man den Dispers-Rot markierten Pentafluorophenylester 6, gelöst in CH₂Cl₂ für 2 h zu den Beads, so blieb im Falle von Harz 7 die Farbe auch nach intensivem Waschen^[40] erhalten. Dies verdeutlichte die kovalente Verknüpfung zwischen Farbstoff und Harz. Das negative Kontroll-Harz 8 hingegen war nach der Waschprozedur wieder farblos. Die Reaktion zwischen dem Aktivester und dem Alkohol findet demzufolge nur in Gegenwart eines Katalysators statt.^[41]

Reaktionen mit einer 1:1 Mischung aus Harz 7 und Harz 8 zeigten rund 50% rote Beads. Die Analyse der tags von einigen roten Beads, bestätigte dann auch, dass sie ausnahmslos Katalysatoren trugen. Damit wurde gezeigt, dass keine Kreuzkatalyse von sichtbarem Ausmass stattfindet.

3.4 Untersuchung einer Bibliothek auf katalytisch aktive Mitglieder

Nachdem diese Kontrollexperimente positiv verlaufen waren, wurde eine codierte^[29] split-und-mix^[14,15] Bibliothek synthetisiert, um Tripeptide auf ihre katalytischen Eigenschaften in einer Acylierungsreaktion zu untersuchen.

Die Bibliothek wurde auf dem bereits besprochenen zweiarmigen Linker (Schema 8) aufgebaut, wobei gemäss der Fmoc-Strategie,^[43] α -Fmoc-Aminosäuren mit säurelabilen Seitenkettenschutzgruppen verwendet wurden. Die Standard-Peptidkupplungen erfolgten mit DIC und HOBt. Als Reaktionspartner A wurde der primäre Alkohol von L-Serin verwendet. Für die Screenings wurde wiederum der farbstoffmarkierte Aktivester **6** benutzt.

In den mit der Tripeptidbibliothek **9** erhaltenen Sequenzen wurde 10 mal ein Histidin, 5 mal zwei benachbarte Histidine und zweimal drei Histidine identifiziert. Über die Erwartungen hinaus, sind die Sequenzen aber keine zufällige Kombination von Histidin mit jeder anderen Aminosäure; auf der Hälfte der analysierten Beads befand sich N-terminal zum Histidin ein Prolin. Dies ist eindeutig mehr als statistisch zu erwarten wäre (2 von 15) und deutet auf eine höhere Aktivität des Pro-His Motivs verglichen mit Histidin alleine hin.

AS 3	AS 2	AS 1	AS 2	AS 1
L-Leu	L-Phe	L-His	D-Tyr	D-Arg
L-Tyr	L-Val	L-His	L-Asn	D-Asn
D-Pro	L-Pro	L-His	L-Asn	D-Asn
L-Pro	D-Pro	D-His	D-Ala	D-His
D-Pro	D-His	D-His	D-Arg	L-His
D-Pro	L-His	L-His	D-His	L-His
L-Leu	D-His	L-His	D-His	L-His
L-Pro	L-His	L-Tyr	D-His	L-His
D-Pro	L-His	L-Tyr	L-His	D-His
L-His	D-His	D-Val	L-His	D-His
D-His	D-His	D-Val	L-His	L-His
D-His	L-Asn	D-Asp	D-His	L-Pro
D-His	L-Asn	L-Tyr		
L-His	L-Asp	D-Asn		
D-His	L-Phe	L-Leu		
L-His	D-His	D-His		
D-His	L-His	L-His		

Tabelle 1: Mit der Tripeptid- und der Dipeptidbibliothek erhaltene Sequenzen

3.5 Quantifizierung der Reaktivität mittels Experimenten in Lösung

Um sicherzustellen, dass die gefundenen Sequenzen auch eine katalytische Aktivität zeigen, wenn die Peptide wie auch der Alkohol in Lösung sind, wurden die Peptide **10-18** nachsynthetisiert und ihre katalytischen Aktivitäten durch kinetische NMR-Studien bestimmt.

10 Ac-L-His-NHPr

11 Ac-L-Pro-L-His-NHPr

12 Ac-L-His-L-His-NHPr

13 Ac-D-His-L-His-NHPr

14 Ac-L-Pro-L-His-L-His-NHPr

15 Ac-L-His-L-His-L-His-NHPr

16 Ac-L-Leu-L-His-L-His-NHPr

17 Ac-Gly-L-His-L-His-NHPr

18 Ac-L-Pro-L-Phe-NHPr

Die kinetischen Studien wurden mit einer Mischung von Benzylalkohol, Triethylamin (jeweils 1.0 eq), 4-NO₂-Phenylacetat (2.0 eq) und 10 mol% Peptid in CD₂Cl₂/DMF (4:1) bei einer Konzentration von 25 mM (Peptid) und mit einem totalen Volumen von 0.5 ml durchgeführt.

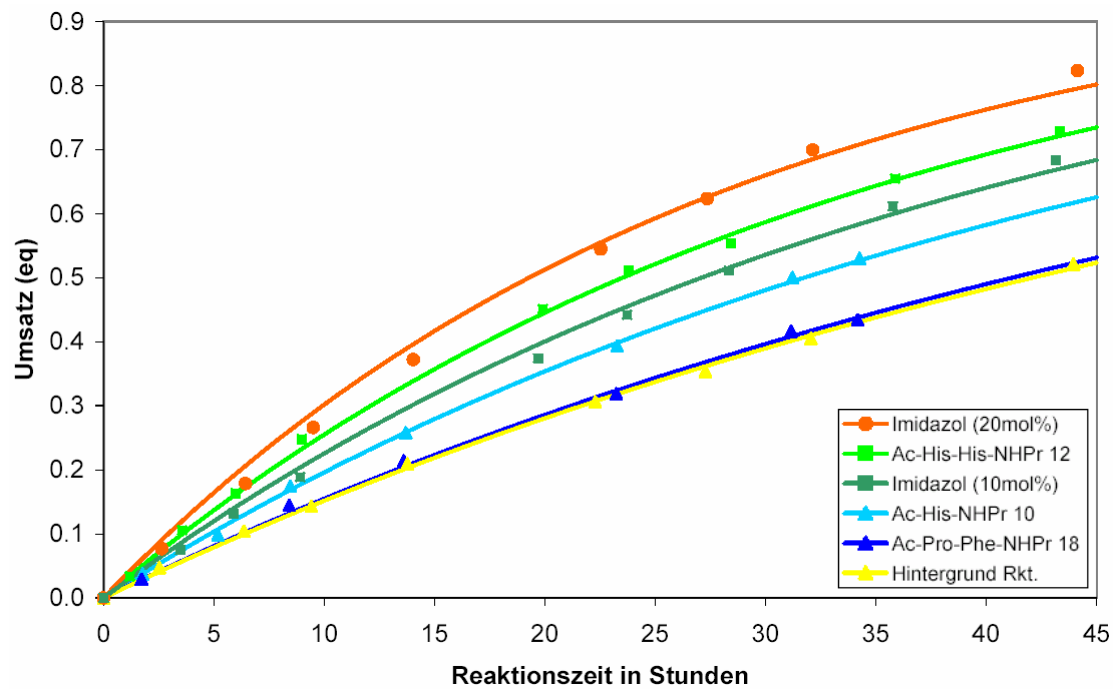


Abbildung 5: Aktivität von Imidazol gegenüber Histidin enthaltenden Peptiden.

Unter diesen Bedingungen findet ohne Peptid eine Hintergrundreaktion statt, die sich mit der „Reaktionsgeschwindigkeit“ des Negativkontrollpeptids **18** deckte. Die Peptide zeigten wie erwartet eine Aktivität im Bereich von Imidazol, welches dann auch als Referenz verwendet wurde.

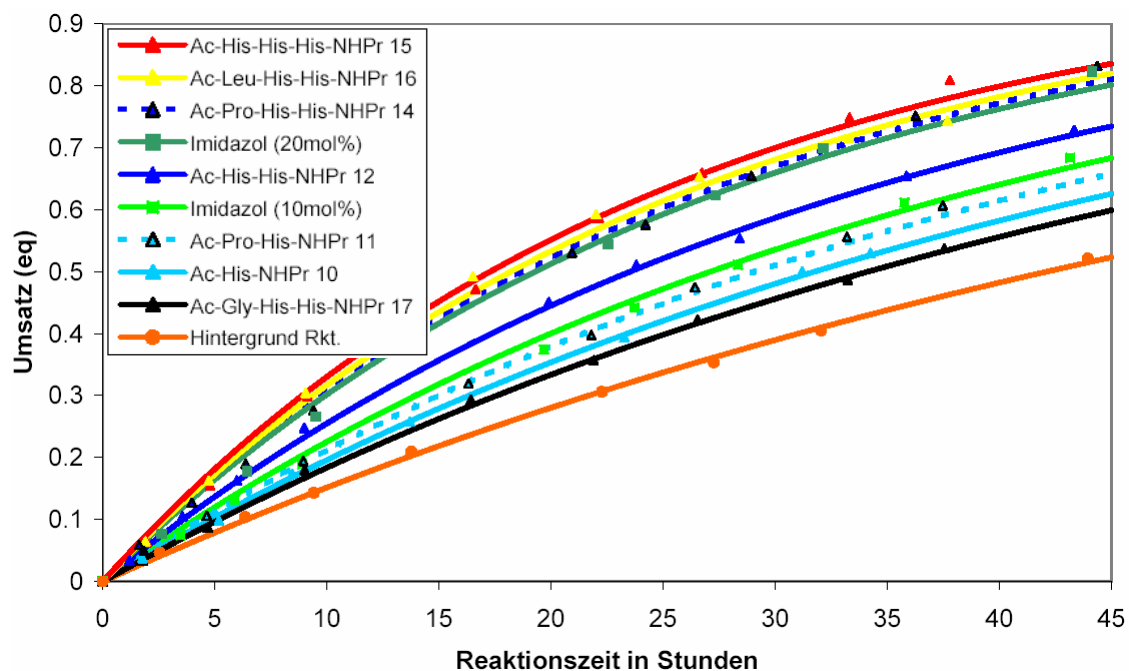


Abbildung 6: Reaktionsgeschwindigkeiten, Einfluss eines N-terminalen Prolins

Es konnte gezeigt werden, dass ein Histidin in einem Peptid nicht ganz die Reaktionsgeschwindigkeit eines Imidazols erreicht, dies sowohl wenn man **10** gegen 10 mol% Imidazol als auch **12** und **13** gegen 20mol% Imidazol vergleicht. Ein Vergleich von 20 mol% Imidazol mit 20mol% **10** konnte mangels Löslichkeit des Peptids nicht durchgeführt werden (Abb. 5).

Den Einfluss des Prolins am N-Terminus von Histidin verdeutlichen die Resultate der Peptide **11** und **14**. In beiden Fällen erhöht sich die Aktivität mit dem zusätzlichen N-terminalen Prolin. Wurde statt einem Prolin ein Glycin im Peptid **17** verwendet, so wurde dieser Effekt nicht festgestellt, was die höhere Aktivität des Pro-His Motivs unterstreicht (Abb. 6).

Die gemessenen Aktivitäten stehen im Einklang mit den gefundenen Selektivitäten. Dies zeigt, dass die Methode der Katalysator-Substrat Co-Immobilisierung dazu geeignet ist, neue katalytisch aktive Strukturen aus grossen split-und-mix Bibliotheken zu identifizieren und als Hilfsmittel für die Suche nach neuen Leitstrukturen in der Entwicklung von Katalysatoren eingesetzt werden kann.

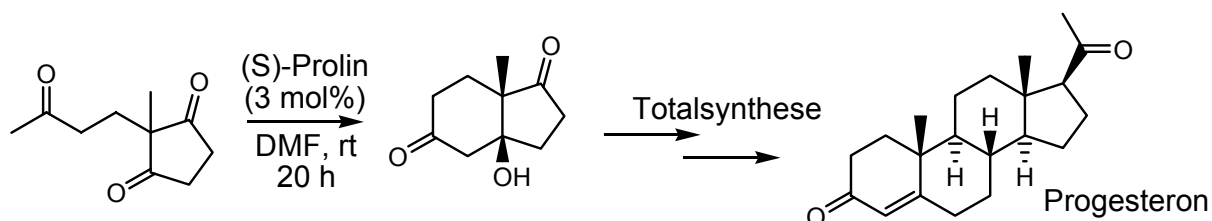
4. Peptide als Katalysatoren für asymmetrische Aldolreaktionen^[44]

4.1 Einführung

Nachdem mit der Entwicklung von Acylierungskatalysatoren gezeigt wurde, dass die Methode der Katalysator-Substrat Co-Immobilisierung ein wertvolles Hilfsmittel für die Suche nach neuen Katalysatoren darstellt, wurde sie für die Identifizierung von Peptiden als Katalysatoren für Aldolreaktionen eingesetzt.

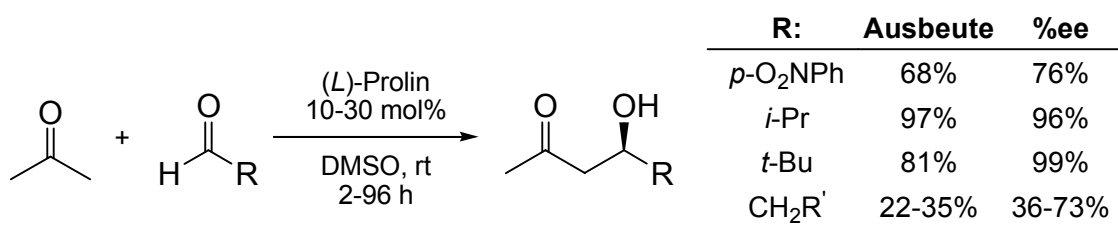
In der Natur dienen Aldolasen mit Metallzentrum (Typ II) oder Lysin im aktiven Zentrum (Typ I) als Katalysatoren für Aldolreaktionen. In Typ-I-Aldolasen wurde ein Mechanismus über ein Enamin-Derivat beobachtet,^[45] in Typ-II-Aldolasen wirkt Zink als Kofaktor.^[46] In der organischen Synthese wurden bislang vorwiegend Brønsted-Basen oder Lewis-Säuren, sowie homogene Übergangsmetall-Katalysatoren für Aldolreaktionen eingesetzt.^[47] In den letzten Jahren sind immer mehr Beispiele von rigiden, niedermolekularen sekundären Aminen als Katalysator ohne Metall als aktives Zentrum bekannt geworden.^[51]

Ein erstes Beispiel dieser „Organokatalysatoren“ wurde in den siebziger Jahren von Hajos und Parrish bei Hoffmann La Roche als auch Wiechert, Eder und Sauer bei Schering benutzt. Sie setzten Prolin als Katalysator für die intramolekulare Aldolreaktion in einer Synthese von Steroiden ein.^[48]



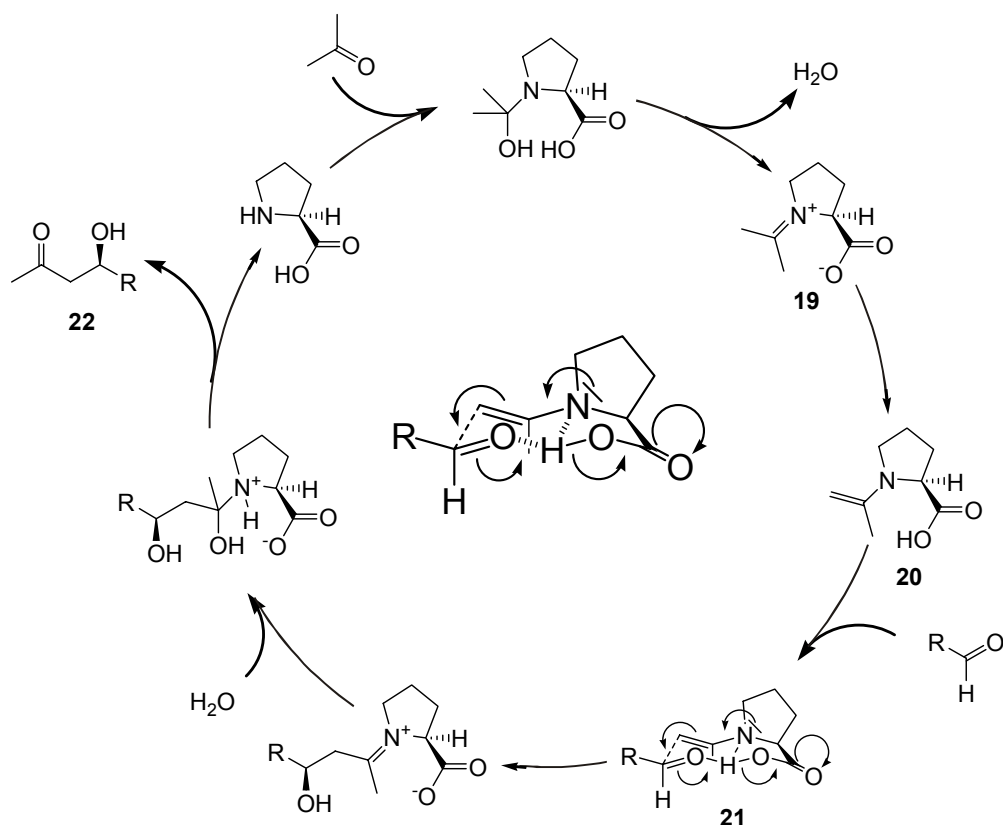
Schema 11: Intramolekulare Aldolreaktion zur Synthese von Stereoiden.

Kürzlich sorgten List und Mitarbeiter für die Wiederentdeckung von Prolin, sie zeigten, dass Prolin auch als Katalysator für intermolekulare Aldolreaktionen dienen kann.^[49]



Schema 12: Erste Prolinkatalysierte Aldolreaktionen von List, Barbas und Lerner^[49]

Sie setzten verschieden Aldehyde mit Aceton zum 3-Hydroxyketon um und erzielten hohe Enantiomerenüberschüsse, mussten allerdings typischerweise 30 mol% Katalysator einsetzen, da die Aktivität oft gering ist. Der vorgeschlagene Mechanismus verläuft dabei nach der Kondensation von Prolin und Aceton über das Iminium-Ion **19** weiter über ein Enamin **20**, welches in einem Zimmermann-Traxler-Übergangszustand^[50] **21** den Aldehyd angreift. Die anschließende Hydrolyse ergibt das Aldolprodukt **22**.

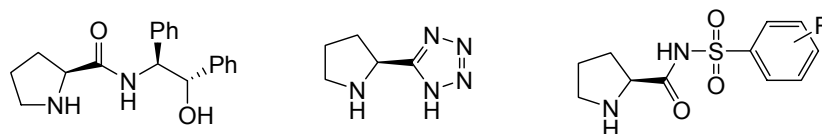


Schema 13: Vorgeschlagener Mechanismus der Prolin-katalysierten Aldolreaktion

Seit den ersten Arbeiten von List, Barbas und Lerner^[49] gibt es eine Fülle von Berichten über Arbeiten mit prolinbasierten Katalysatoren und anderen sekundären Aminen für aldolartige Reaktionen wie Mannich-Reaktionen aber auch Michael-Additionen, Friedel-Crafts Acylierungen oder Cycloadditionen.^[51] Eine Optimierung dieser Organokatalysatoren ist dabei nicht einfach, da nur wenige Möglichkeiten für strukturelle Modifikationen bestehen.

Obwohl in den ersten Arbeiten gezeigt wurde, dass auch die Carbonsäure von Prolin als Protonendonator essentiell ist, sind in jüngster Zeit Beispiele publiziert worden, in denen die Reaktionen ohne Carbonsäuren mit hohen Enantioselektivitäten ablaufen.^[52] Die meisten der Arbeiten bauen dabei auf einfache C-terminal

derivatisierte Proline auf, da Modifikationen am Pyrrolring mit einem weitaus grösseren synthetischen Aufwand verbunden sind.



Schema 14: Beispiele von Prolin-basierten Katalysatoren (Aminoalkohol,^[52] Tetrazol^[53], N-Sulfonylcarboxamid^[54])

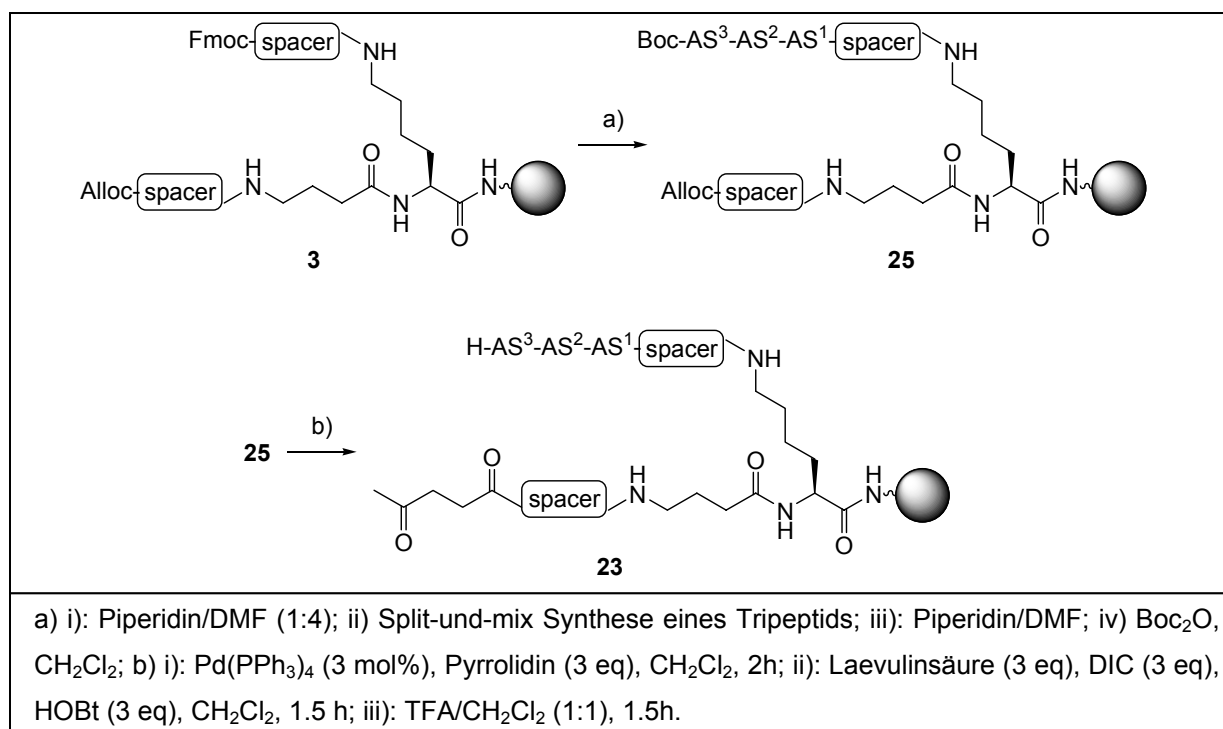
Die Idee weitere Aminosäuren als Bausteine für eine einfache Modifikation des C-Terminus zu verwenden, wurde nur in wenigen Beispielen aufgegriffen.^[51,52,55] Die Verwendung von Peptiden als Katalysatoren könnte dabei grosse Vorteile bringen. Die erhöhte Komplexität, wie auch ihr Aufbau aus den verschiedenen Aminosäurebausteinen erlauben eine hohe Diversität der Strukturen ohne die Synthesen jeweils von neuem entwickeln oder optimieren zu müssen.

4.2 Identifizierung katalytisch aktiver Tripeptide durch Katalysator-Substrat Co-Immobilisierung

Die Methode der Katalysator-Substrat Co-Immobilisierung wurde zur Identifizierung von katalytisch aktiven Peptiden für asymmetrische Aldolreaktionen in split-und-mix Bibliotheken benutzt.

Die Tripeptidbibliothek **23** wurde durch codierte^[29] split-und-mix Synthese^[14,15] auf dem einen Arm eines zweiarmigen, auf Lysin basierenden Linkers **3** hergestellt und besitzt einen freien N-Terminus. Auf den anderen Arm des Linkers wurde Laevulinsäure gekuppelt, deren Keton fungiert als Reaktionspartner A. Als Reaktionspartner B diente ein farbstoffmarkiertes Benzaldehydderivat **24**.

Sämtliche Peptidkupplungen wurden dabei mit Fmoc-Aminosäuren mit säurelabilen Schutzgruppen unter Standard Peptidkupplungsbedingungen^[43] mit DIC/HOBt durchgeführt.



Schema 15: Funktionalisierung des zweiarmligen Linkers für die Identifikation von Aldolkatalysatoren

Für die kombinatorischen Experimenten wurde eine Lösung (~1mg/ml) des Farbstoffmarkierten Benzaldehyd-Derivats **24** zur Tripeptidbibliothek **23** gegeben. Nach 1-2h bei Raumtemperatur wurde das Harz abfiltriert. Nachdem die Beads intensiv gewaschen wurden, um jegliche nicht-kovalent gebundenen farbstoffmarkierten Verbindungen zu entfernen und Imine aufzubrechen, blieben wenige Bead (~1 aus 100) intensiv rot gefärbt. Dies zeigte, dass die Peptide der Bibliothek in der Lage waren, eine Reaktion zwischen dem immobilisierten Keton und dem farbstoffmarkierten Benzaldehydderivat **24** zu vermitteln.

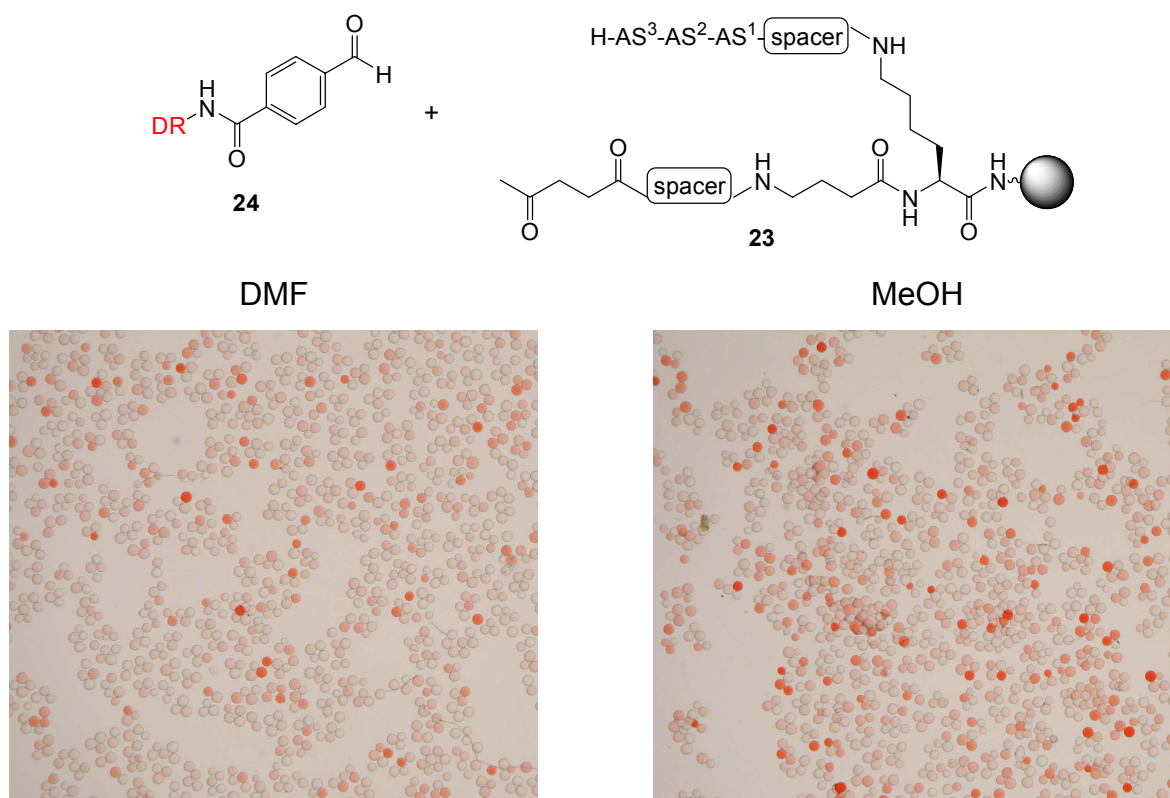


Abbildung 7: Übersicht über die Resultate der Tripeptidbibliothek

Isolierung einiger der dunkelsten roten Beads und die Analyse der darauf gebundenen Peptide zeigte die folgenden Schlüsselsequenzen:

Lösungsmittel	Schlüsselsequenz
DMF	H-D/L-Pro-D/L-Pro-D-Asp-NHR
MeOH	H-L-Pro-D-Ala-D-Asp-NHR

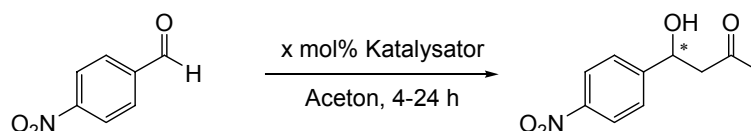
Tabelle 2: Schlüsselsequenzen aus den kombinatorischen Experimenten

Wie Prolin enthalten die gefundenen Peptide ein sekundäres Amin und eine Carbonsäure. Dennoch wurden nicht alle diese funktionellen Gruppen enthaltenden Peptide selektiert, vielmehr nur solche, welche die Motive Pro-Pro oder Pro-D-Ala enthalten. Diese Motive sind dafür bekannt, Turnstrukturen auszubilden.^[56]

Um sicherzustellen, dass die Peptide katalytisch aktiv sind, und ihre Aktivität wie auch ihre Enantioselektivität zu untersuchen wurden anschliessende Aldolreaktionen in Lösung durchgeführt.

4.3 Aldolreaktionen in Lösung

Die identifizierten Peptide H-L-Pro-L-Pro-L-Asp-NH₂ **26** und H-L-Pro-D-Ala-D-Asp-NH₂ **27** wurden nach dem Fmoc-Protokoll^[43] auf Rink-Amid Harz synthetisiert und unter Entfernung ihrer Schutzgruppen mit TFA vom Harz abgespalten. Als erste Testreaktion diente die Aldolreaktion zwischen *p*-Nitrobenzaldehyd und Aceton, letzteres fungierte auch als Lösungsmittel (Tabelle 3).



Eintrag	Katalysator	mol%	Temp. (°C)	Ausbeute (%)	ee (%) ^a	abs. Konf. ^b
1 ^c	26	1	rt	99	80	<i>S</i>
2	26	5	-20	98	90	<i>S</i>
3	27	10	rt	73	70	<i>R</i>
4	27	10	-20	53	81	<i>R</i>
5 ^d	Prolin	30	rt	68	76	<i>R</i>
6	Prolin	30	-20	30	71	<i>R</i>

^aBestimmt mittels chiraler HPLC. ^babs. Konf. steht für absolute Konfiguration des Produkts. ^cDie Reaktion zeigte bereits nach 4 h 100% Umsatz. ^dDaten aus Ref. 57a.

Tabelle 3: Aldol Reaktion zwischen *p*-Nitrobenzaldehyd und Aceton, katalysiert durch die Peptide **26** und **27**.

Diese Studien ergaben, dass die Peptide, besonders aber **26** eine sehr hohe Aktivität zeigen. 1 mol% Katalysator reicht trotz der schlechten Löslichkeit in Aceton aus, um das Aldolprodukt innert 4 h in 99% Ausbeute und 80% Enantiomerenüberschuss zu erhalten.

Unter den gleichen Reaktionsbedingungen konnten mit 30 mol% Prolin nur 68% Ausbeute bei 76 % ee erhalten werden. Die höhere strukturelle Komplexität ist damit ein guter Tausch gegen eine über 30 mal höhere Aktivität. Zugleich kann eine Steigerung der Enantioselektivität, durch Erniedrigen der Temperatur auf -20°C um weitere 10% auf 90% ee ohne grossen Verlust der Aktivität erhalten werden. Eine Erklärung ist die dabei erniedrigte konformationelle Flexibilität des Peptids. Reaktionen bei noch tieferen Temperaturen von bis -78°C zeigten eine deutlich erniedrigte Reaktivität ohne Gewinn an Enantioselektivität.

Bei Aldolreaktionen mit anderen Aldehyden wurden ähnlich hohe katalytische Aktivitäten und Enantioselektivitäten der Peptide **26** und **27** beobachtet (Tabelle 4). Mit 1 mol% **26** oder 10 mol% **27** wurden vergleichbare Ausbeuten erhalten wie mit 30mol% Prolin.^[57] Die Enantioselektivitäten sind bei Raumtemperatur in der selben Grössenordnung (Einträge 3 und 4) oder mit mindestens einem Peptid besser (Einträge 1, 2 und 5) als die mit Prolin erhaltenen Werte. Desweiteren zeigte die Reaktion, dass für bestimmte Substrate **26** (Eintrag 1 und 2) oder **27** (Eintrag 4) der bessere Katalysator ist.^[58] Dies deutet darauf hin, dass sich die Peptide ergänzen und für jedes Paar von Substraten ein ideales Peptid gefunden werden kann. Bemerkenswert bei den ermittelten Ergebnissen ist, dass die beiden Peptide **26** und **27** entgegengesetzte Enantioselektivitäten aufweisen, obwohl sie an ihren N-Termini jeweils ein L-Prolin tragen.

Eintrag	R	1 mol% 26		10 mol% 27		30 mol% Pro ^c	
		Ausbeute ^a	ee ^b	Ausbeute ^a	ee ^b	Ausbeute	ee
1	4-NO ₂ Ph	99	80 (S)	73	70 (R)	68	76 (R)
2	Ph	69	78 (S)	58	66 (R)	62	60 (R)
3	<i>c</i> -Hex	66	82 (S)	56	83 (R)	63	84 (R)
4	<i>i</i> -Pr	79	79 (S)	75	91 (R)	97	96 (R)
5	<i>neo</i> -Pent	28	73 (R)	24	70 (S)	22	36 (S)

^aAusbeuten in %, in Einträgen 2, 3 und 5 konnten 30-70% der Aldehyde reisoliert werden. ^b Aufgeführt in % und bestimmt mittels chiraler HPLC oder GC, (R) und (S) steht für die absolute Konfiguration des Produkts. ^cDaten aus Ref. 57a.

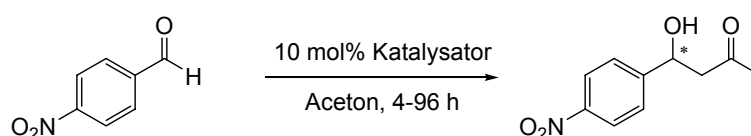
Tabelle 4: Durch die Peptide **26** und **27** katalysierte Aldol Reaktionen.

4.4 Untersuchung der Faktoren der katalytischen Effizienz

Um die für die Katalyse wichtigen Faktoren der Peptide aufzuklären, wurden einerseits der Einfluss des N-Terminus wie auch der Carbonsäure und deren relative Positionen untersucht.

N-acetylierte Peptide zeigten in den kombinatorischen Experimenten keinerlei katalytische Aktivität, was darauf hindeutet, dass die Katalyse auf der Generierung eines Enamins basiert.

Der Austausch der Asparaginsäure durch die flexiblere Glutaminsäure im Peptid **28** oder Asparagin im Peptid **29** liess sowohl die Enantioselektivität, wie auch die Aktivität der Katalysatoren sinken. Studien mit den weniger aktiven und enantioselektiven Dipeptiden **33**, **37** und **38** welche kein Aspartat, dafür eine Carbonsäure am C-Terminus aufweisen, sowie die Untersuchung der zu **26** diastereomeren Peptide **30-32** zeigten, dass die relative Position der Carbonsäure zum sekundären Amin ebenfalls von zentraler Bedeutung zu sein scheint.



Rkt.-Zeit	Katalysator	Ausbeute	% ee
4 h	H-L-Pro-L-Pro-L-Asp-NH ₂ 26	99%	80% ee (S)
48 h	H-L-Pro-L-Pro-L-Glu-NH ₂ 28^a	60%	62% ee (S)
48 h	H-L-Pro-L-Pro-L-Asn-NH ₂ 29^a	14%	50% ee (S)
96 h	H-D-Pro-L-Pro-L-Asp-NH ₂ 30	24%	50% ee (R)
96 h	H-L-Pro-D-Pro-L-Asp-NH ₂ 31	21%	24% ee (S)
96 h	H-D-Pro-D-Pro-L-Asp-NH ₂ 32	27%	11% ee (R)
48 h	H-L-Pro-L-Pro-OH 33	26%	7% ee (S)
24 h	H-L-Pro-D-Ala-D-Asp-NH ₂ 27	73%	70% ee (R)
48 h	H-L-Pro-D-Ala-D-Glu-NH ₂ 34	54%	59% ee (R)
48 h	H-L-Pro-Gly-D-Asp-NH ₂ 35	63 %	62% ee (R)
48 h	H-L-Pro-Aib-D-Asp-NH ₂ 36	83 %	63% ee (R)
48 h	H-L-Pro-L-Ala-OH 37	24%	50% ee (R)
48 h	H-L-Pro-D-Ala-OH 38	21%	24% ee (S)

^aermittelt durch Dr. J. Revell.

Tabelle 5: Peptide zur Untersuchung der Faktoren der katalytischen Effizienz

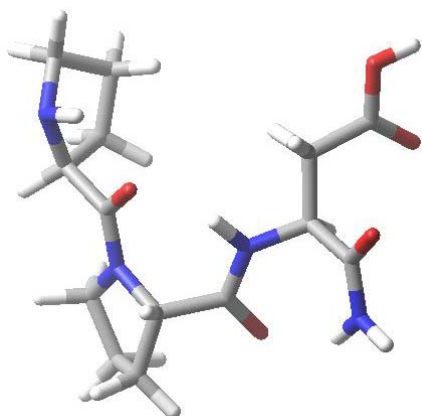
Wurde die mittlere Aminosäure wie in den Peptiden **35** und **36** variiert, so zeigten sowohl das Peptid **36**, mit der sterisch anspruchsvolleren Aminoisobuttersäure (Aib) wie auch das Peptid **35**, mit dem flexibleren Glycin gegenüber **27** verminderte Enantioselektivitäten.

Diese Beobachtungen zeigten weiter, dass die in den kombinatorischen Screenings identifizierten Peptide nicht nur die aktivsten, sondern auch die selektivsten sind.

4.5 Konformationsanalysen

Da Konformationsanalysen mittels NMR aufgrund der geringen Löslichkeit der Peptide in Aceton nicht durchführbar waren, wurden Kraftfeld Konformations-Analysen durchgeführt (MacroModel 8.0, OPLS Kraftfeld in CHCl_3 und H_2O).^[59] Die so berechneten energieärmsten Strukturen unterstützen die Annahme der turn-Konformationen der beiden Peptide **26** und **27**.

H-L-Pro-L-Pro-L-Asp-NH₂ (26)



H-L-Pro-D-Ala-D-Asp-NH₂ (27)

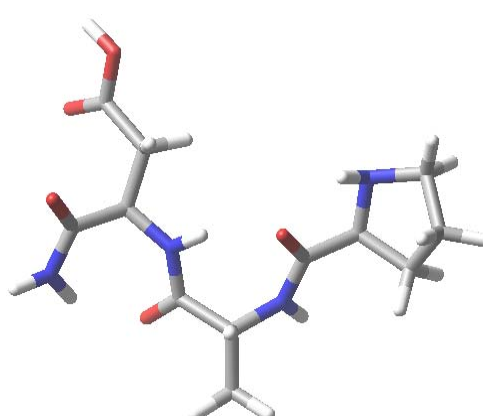


Abbildung 8: Berechnete energieärmste Strukturen der Peptide **26** und **27**

In beiden Konformationen ist das sekundäre Amin von Prolin in räumlicher Nähe zur Carbonsäure des Aspartats. Gestützt auf die mechanistischen Studien der Prolinkatalyse, in denen die Carbonsäure als Protonen-Donor vorgeschlagen wird, kann damit diese räumliche Nähe als wichtig angesehen werden.

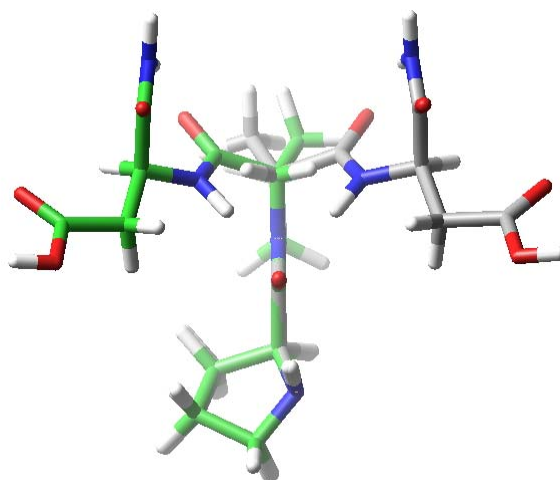


Abbildung 9: Überlagerung der berechneten Strukturen von **26**, grün und **27**, grau

Aufschluss über die entgegengesetzten Enantioselektivitäten der beiden Peptide **26** und **27** lieferte die Überlagerung der beiden Strukturen. Die Überlagerungen der N-terminalen Prolinringe ergab eine Übereinstimmung der Konformationen bis zum α -Kohlenstoff der mittleren Aminosäure und zeigte weiter, dass die Carbonsäuren der Aspartat-Seitenketten relativ zueinander beinahe spiegelbildlich stehen. Der linksgängige Turn von **26**, ist verglichen mit dem rechtsgängigen Turn von **27** eine mögliche Erklärung für die entgegengesetzten Enantioselektivitäten der beiden Peptide.

5. Zusammenfassung und Ausblick

Mit der Katalysator-Substrat Co-Immobilisierung wurde eine Methode entwickelt, mit der die Identifizierung katalytisch aktiver Mitglieder in split-und-mix Bibliotheken für prinzipiell jede bimolekulare Reaktion möglich ist.

Die in einer Acylierungsreaktion identifizierten Peptide trugen mit einer signifikanten Häufigkeit das Motiv Pro-His. Diese Kombination zeigte in anschliessenden kinetischen Untersuchungen eine erhöhte Aktivität gegenüber der Kombination einer beliebigen Aminosäure mit Histidin.

Die Methode wurde darüber hinaus zur Entwicklung von Katalysatoren für asymmetrische Aldolreaktionen verwendet. Dabei wurden die Peptide H-L-Pro-L-Pro-L-Asp-NH₂ **26** und H-L-Pro-D-Ala-D-Asp-NH₂ **27** identifiziert, welche ein N-terminales Prolin, sowie eine C-terminale saure Aminosäure besitzen. Nachfolgende Experimente in Lösung zeigten, dass **26** und **27** Aldolreaktionen mit exzellenten Ausbeuten und guten Enantiomerenüberschüssen katalysieren. Im Vergleich zu Prolin zeigt insbesondere **26** eine um mehr als das 30-fache erhöhte Aktivität.

Konformationsanalysen der Strukturen zeigten eine Turn-Struktur, welche dazu führt, dass sich die Carbonsäure in der Seitenkette der C-terminalen Aminosäure in der Nähe des sekundären Amins des N-terminalen Prolins befindet. Weiter konnten die berechneten Strukturen eine plausible Erklärung dafür geben, dass **26** und **27** entgegengesetzte Enantioselektivitäten aufweisen, obwohl beide Peptide ein L-Prolin am N-Terminus tragen.

Untersuchungen der Peptide in Reaktionen mit weiteren, vor allem aliphatischen Aldehyden als Substrate zeigten, dass die Peptide komplementäre katalytische Eigenschaften zu sich selbst und zu Prolin haben.

Die grössere Komplexität der Peptide gegenüber Prolin ermöglicht eine gezielte Veränderung der Peptidstruktur, diese wiederum, sollte eine Anpassung der Katalysatoren an verschiedene Substrate erlauben.

Die hier vorgestellten Aldolkatalysatoren, allen voran H-L-Pro-L-Pro-L-Asp-NH₂ **26** werden im Moment auf ihre Fähigkeit, weitere Substrate umzusetzen getestet. Kinetische Studien, wie auch die Untersuchung der Abhängigkeit der Enantioselektivität vom Reaktionsverlauf sollen weiteren Einblick in die Reaktionsmechanismen liefern.

Die Methode der Katalysator-Substrat Co-Immobilisierung wird im Moment für die Entwicklung von Katalysatoren für andere Reaktionen verwendet.

Die Abänderung der Methode auf eine nachträgliche Derivatisierung der Reaktionsprodukte mit z.B. zwei verschiedenen fluorophormarkierten Pseudoenantiomeren, könnte die Möglichkeit bieten die potentiellen Katalysatoren nicht nur nach Aktivität sondern auch nach Enantioselektivität zu selektionieren. Da eine Quantifizierung on-bead aber auf Grund der Inhomogenität des Harzes sehr schwierig ist, müsste das Verfahren dafür erst auf Glas-Slides wie sie aus DNA-Screenings bekannt sind transferiert werden. Die Kombination mit automatischen Fluoreszenzlesegeräten könnte das Verfahren zusätzlich beschleunigen.

Ein Ausbau, sowohl der on-bead wie auch der soeben erwähnten Glas-Slide Methode auf ein paralleles Screening mit mehreren, verschieden markierten Reaktionspartnern B, könnte die Entwicklung regio- und/oder substratspezifischer Katalysatoren zulassen. Dies könnte ein Beitrag zur schutzgruppenfreien Synthese sein.

Die Neugier steht immer an erster Stelle eines Problems,
das gelöst werden will.

Galileo Galilei

Teil B

Wasserlösliche Diketopiperazin-Rezeptoren - Ihre Bindungseigenschaften und Anwendungen

6. Einleitung Teil B

Das Verständnis der Grundlagen von nicht-kovalenten Interaktionen zwischen Molekülen ist ein zentrales Thema der Naturwissenschaften. Die Möglichkeit Moleküle zu entwerfen, welche andere Moleküle selektiv binden ist von enormer Wichtigkeit für die Entwicklung neuer Wirkstoffe wie auch für das Verständnis zahlreicher natürlicher Prozesse.

Synthetische Rezeptoren für Peptide könnten dabei nicht nur als neue Wirkstoffe und Diagnostika, sondern auch für die Separation von Peptidmischungen,^[60] die Entwicklung spezifischer Sensoren^[61,62] oder als Modell für natürliche Peptid-Peptid Wechselwirkungen dienen.

Vor allem zweiarmige Rezeptoren haben sich dabei in den letzten Jahren als Strukturen mit einem grossen Potential für die selektive Erkennung von Peptiden herausgestellt. Verschiedene Arten dieser molekularen Klammern, welche mittels kombinatorischer Strategien variiert und/oder auf ihre Bindungseigenschaften untersucht werden können, wurden entwickelt.^[63-67] Ihre Strukturmerkmale variieren dabei von zweiarmigen makrobizyklischen Rezeptoren,^[63,64] über peptidische und sulfono-peptidische Strukturen,^[65,66] zu guanidinbasierten Rezeptoren für die Erkennung von Carboxylaten.^[67] Dabei bestehen die Rezeptoren meistens aus rigiden, strukturdirigierenden Grundgerüsten und variablen Rezeptorarmen. Eine grosse Variabilität kann dabei leicht erreicht werden, indem die Bausteine der Rezeptorarme mittels kombinatorischer Methoden variiert werden.

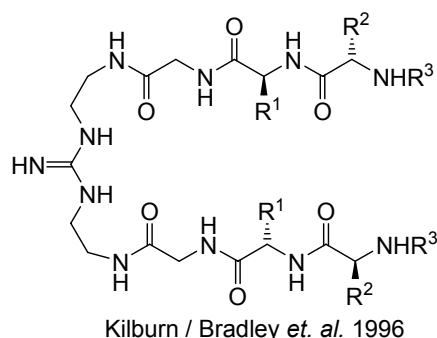
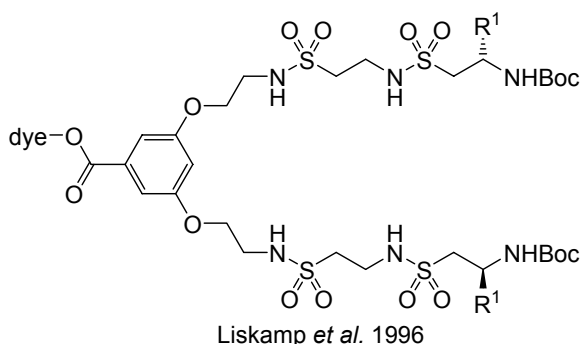


Abbildung 10: Beispiele zweiarmiger synthetischer Rezeptoren^[65-67]

In der Wennemers-Gruppe wurde die Klasse der Diketopiperazin-Rezeptoren entwickelt.^[61] Derartige zweiarmige Rezeptoren basieren auf einem Cyclodi- γ -aminoprolin, das zwei peptidische Rezeptorarme trägt.

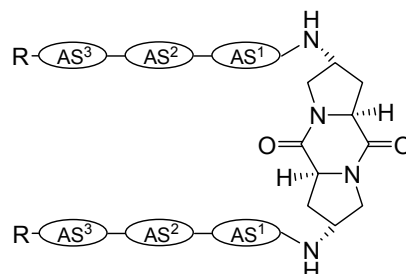


Abbildung 11: Generelle Struktur der Diketopiperazin Rezeptoren

Kombinatorische und konventionelle Bindungsstudien zeigten, dass Diketopiperazin-Rezeptoren in organischen Lösungsmitteln mit der höchsten bisher beobachteten Sequenzselektivität und Bindungsaffinitäten im Bereich von $\Delta G = -5$ bis -6 kcal/mol binden. Die Rezeptorarme fungieren dabei als Erkennungselemente, wobei bereits kleine strukturelle Modifikationen einen signifikanten Einfluss auf die Bindungselektivitäten der Diketopiperazin-Rezeptoren haben. Das Diketopiperazin-Templat dient als rigides, strukturdirigierendes Grundgerüst. Dessen Austausch gegen andere Template führt zu weniger selektiven Rezeptoren oder dem vollständigen Verlust der Bindungseigenschaften.^[68c]

In dieser Arbeit werden zunächst die Synthese, sowie Bindungseigenschaften von wasserlöslichen Diketopiperazin-Rezeptoren dargestellt. Desweiteren werden Anwendungen der wasserlöslichen Diketopiperazin-Rezeptoren für die Entwicklung von flüssigkristallinen Verbindungen und Sensoren („Chemische Nasen“) vorgestellt.

7. Diketopiperazin Rezeptoren^[69]

Um die Klasse der Diketopiperazin-Rezeptoren auf ihre Bindungseigenschaften in wässrigen Lösungen zu testen, wurden zunächst wasserlösliche Rezeptoren hergestellt, welche in kombinatorischen Experimenten gegen Peptidbibliotheken gescreent wurden. Dispers-Rot markiertes Tyrosin in der ersten Position der Rezeptorarme erlaubte dabei ein on-bead Screening. Die sauren Aminosäuren wurden verwendet, um die Wasserlöslichkeit der farbstoffmarkierten Rezeptoren zu ermöglichen. Die Auswirkungen des Templats auf die Bindungseigenschaften sollte ein einarmiger Rezeptor **41** zeigen.

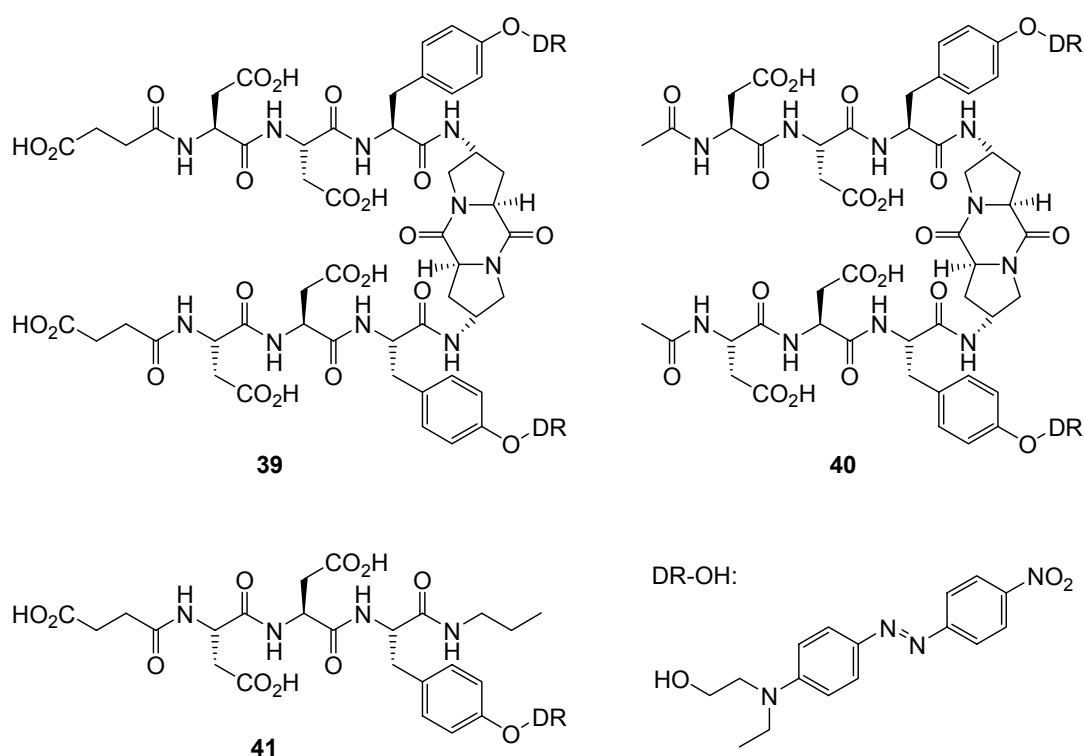
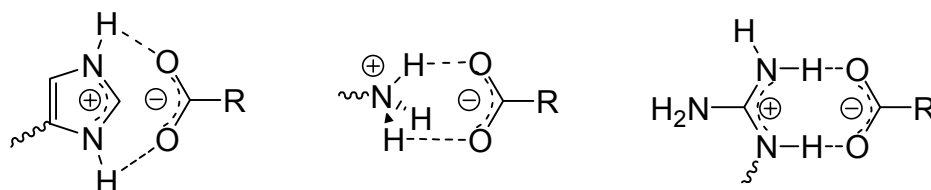


Abbildung 12: Struktur der Rezeptoren

Die freien Carboxylate der Rezeptoren liessen Selektivitäten für basische Aminosäuren wie Histidin und Lysin aber vorallem Arginin erwarten.

Eine Selektivität für Arginin gegenüber Histidin und Lysin lässt sich unter basischen Bedingungen mit den verschiedenen pK_s -Werten erklären. Histidin mit einem pK_s -Wert von 6 ist die schwächste Base und liegt selbst unter neutralen Bedingungen nur zu einem kleinen Teil protoniert vor, das primäre Amin von Lysin hat einem pK_s -Wert von 10.5. Die Guanidin-Gruppe von Arginin hingegen besitzt einen pK_s -Wert von

12.5 und wird damit bei steigendem pH-Wert als letzte basische Seitenkette deprotoniert.^[70]



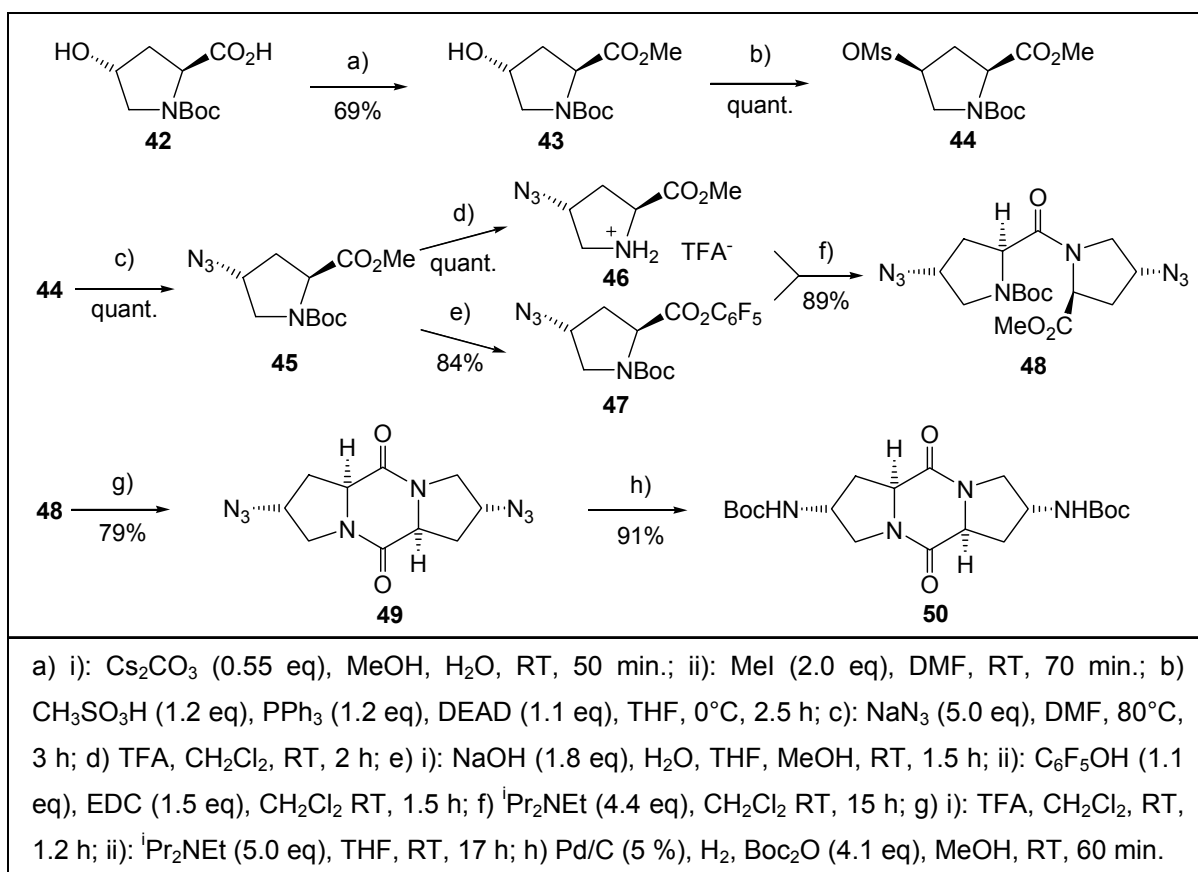
Schema 16: Base-Carboxylat Wechselwirkungen

Die elektrostatische Wechselwirkung ist aber nicht die einzige Erklärung für die Präferenz von Arginin gegenüber Lysin und Histidin.

Die unterschiedlichen Bindungsstärken zwischen Histidin, Lysin und Arginin zu einem Carboxylat erklären sich vielmehr mit unterschiedlichen Geometrien und der Lokalisierung der Ladung.^[71] Die positive Ladung ist im Falle von Histidin und Guanidin delokalisiert, bei Lysin lokalisiert auf dem Ammonium-Stickstoff. Während aus dem Effekt der Ladungslokalisierung^[72] die Lysin-Carboxylat-Wechselwirkung die stärkste sein müsste, folgt aus der Geometrie eine Bevorzugung der Carboxylat-Guanidinium-Wechselwirkung^[73] und gibt schlussendlich den Ausschlag für eine bevorzugte Wechselwirkung von Carboxylaten mit Arginin.^[74]

7.1 Synthese

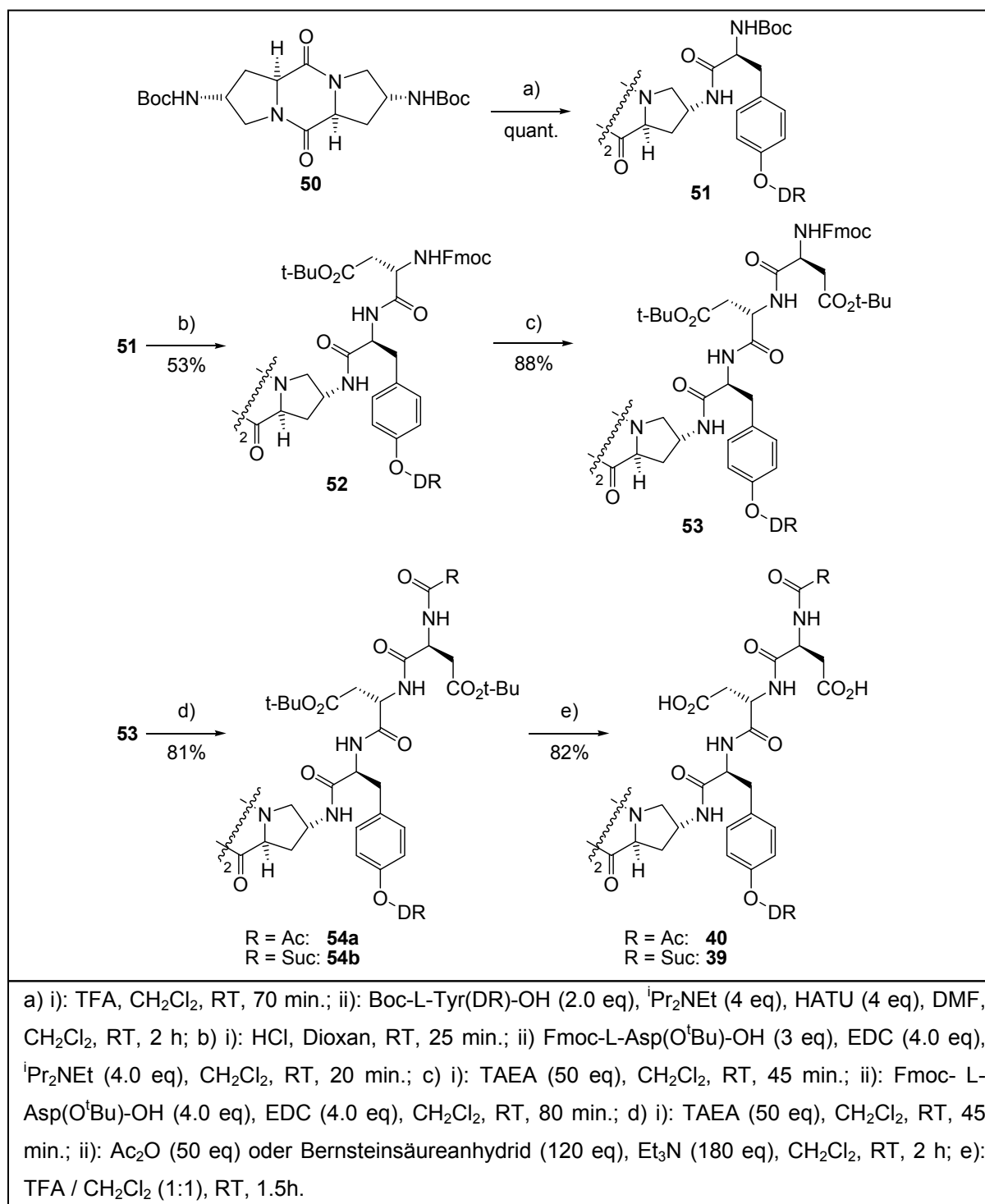
Die Synthese der Diketopiperazin-Rezeptoren geht von *N*-Boc-Hydroxyprolin **42** aus, welches zunächst zum Methylester **43** umgesetzt wurde. Nachfolgend wurde die γ -Position unter Mitsunobu-Bedingungen unter Inversion der Konfiguration zum Methylsulfonsäureester **44** umgesetzt und dieser mit Natriumazid wiederum unter Inversion der Konfiguration nucleophil substituiert. Die Hälfte des erhaltenen Azids **45**, wurde mit TFA *N*-terminal entschützt **46**, während der Methylester der anderen Hälfte verseift und mit EDC als Kupplungsreagenz zum Pentafluorophenylester **47** aktiviert wurde. Die Kupplung des Amins **46** mit dem Aktivester **47** führte zum linearen Dipeptid **48**, welches anschliessend mit TFA *N*-terminal entschützt und in Gegenwart von Hünig-Base zum Diketopiperazin **49** cyclisiert wurde. Die Reduktion der Azide in Gegenwart von Di-*tert.*-butyldicarbonat (Boc_2O) führte zum *N*-Boc geschützten Diketopiperazin **50**^[68a] (Schema 17).



Schema 17: Syntheschema des Diketopiperazin-Grundgerüsts **50**

Zum Aufbau der Seitenarme (Schema 18) wurden die Boc-Schutzgruppen des Diketopiperazins **50** mit HCl in Dioxan abgespalten und die resultierenden Amine unter Verwendung von HATU als Kupplungsreagens mit Boc-L-Tyr(DR)-OH^[68a] funktionalisiert. Die Boc-Gruppen wurden mit HCl abgespalten und die beiden weiteren Kupplungen von Fmoc-L-Asp(O^{*t*}Bu)-OH erfolgten mit EDC als Kupplungsreagenz und TAEA für die Abspaltung der Fmoc-Schutzgruppen. Nach der zweiten Fmoc-Abspaltung wurden die N-Termini der Rezeptorarme entweder mit Essigsäureanhydrid, oder Bernsteinsäureanhydrid acyliert. Die Entfernung der *tert.*-Butylester der Aspartate unter sauren Bedingungen führte zu den Rezeptoren **39** und **40**.

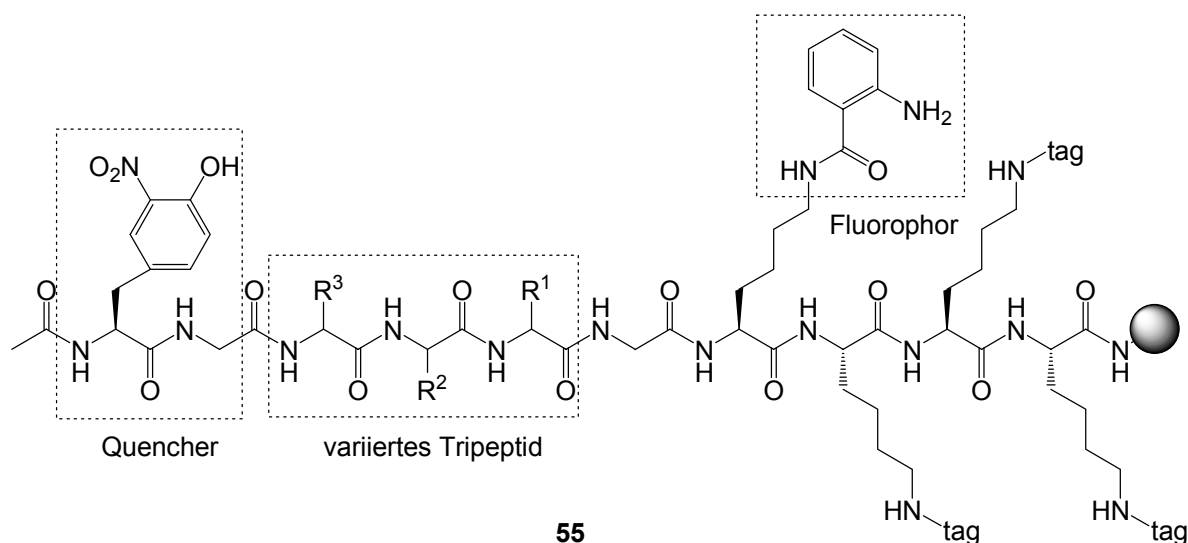
Der einarmige Rezeptor **41** wurde analog zum zweiarmigen Rezeptor **39** ausgehend vom Propylamid Boc-L-Tyr(DR)-NHPr hergestellt.



Schema 18: Aufbau der Rezeptorarme

7.2 Kombinatorische Bindungsstudien

Zur Untersuchung der Bindungseigenschaften wurden die wasserlöslichen Farbstoffmarkierten Rezeptoren gegen eine kombinatorische Bibliothek von Tripeptiden auf ihre Bindungseigenschaften untersucht. Dazu wurde die nach dem Protokoll der codierten^[29,30] split-und-mix^[14,15] Synthese hergestellte Tripeptidbibliothek^[75] **55** verwendet. Die Verwendung von je 31 verschiedenen Aminosäuren pro Position, führte zu einer maximal möglichen Anzahl von 29'791 verschiedenen Tripeptiden. Das variierte Tripeptid ist C-terminal von einem Glycin und einer Anthranilsäure als Fluorophor, und N-terminalen von einem Glycin und einem Nitrotyrosin als Quencher flankiert. Quencher und Fluorophor waren für weiterführende Spaltungsexperimente bestimmt und sollten die Bindungsselektivitäten nicht beeinflussen, da sie in jedem Peptid vorhanden sind. Im weiteren sind zwischen dem TentaGel-Harz und der Fluorophoreinheit drei Lysine als Anker für die Tag-Moleküle vorhanden.



Schema 19: Struktur der verwendeten Peptidbibliothek **55**

Zur Untersuchung der Bindungseigenschaften wurden die aspartatreichen Rezeptoren in Konzentrationen von 3 – 20 μM mit der obengenannten Bibliothek **55** equilibriert. Experimente in Tris·HCl-Puffer bei pH 7.2 zeigten dabei nur wenige dunkelrote Harzkügelchen (~1 aus 100). Mit **41** konnten keine hohen Kontraste beobachtet werden.

Unter basischen Bedingungen, 10mM wässrige NaOH (pH ~12) oder 10mM Tris·HCl-Puffer (pH = 10), wurden mit **39** (3 μM) und **40** (10 μM) nur wenige sehr dunkelrote Harzkügelchen (~1 aus 1000) beobachtet, mit **41** (~20 μM) war die Zahl

der roten Kügelchen (~1 aus 100) ebenfalls geringer und die Kontraste höher als bei neutralem pH.

Unter sauren Bedingungen (pH < 4) konnte mit keinem der Rezeptoren eine selektive Bindung beobachtet werden.

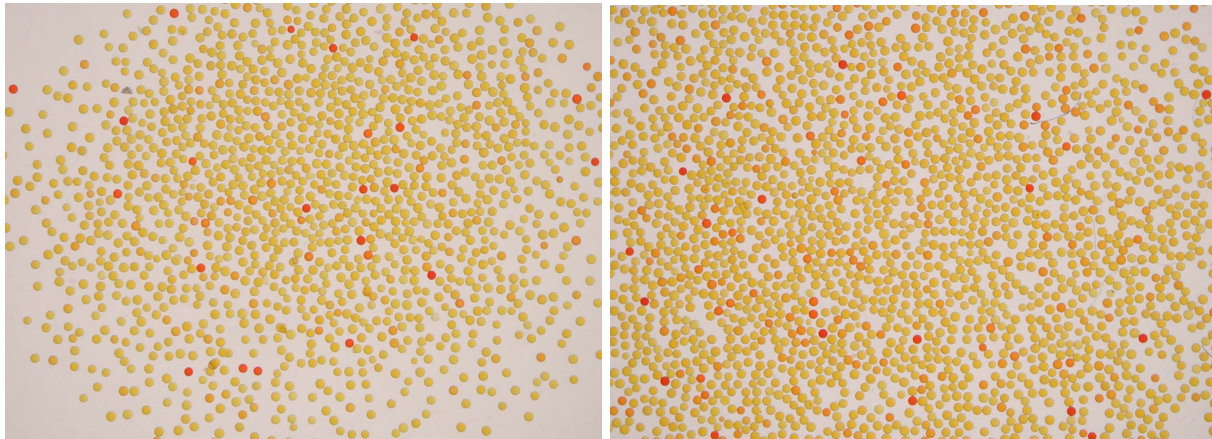


Abbildung 13: Mikroskop-Aufnahmen von kombinatorischen Experimenten mit **39** (links) und **40** (rechts) in Wasser bei pH 10.

Rez.	Selektivität bei pH 12			Selektivität bei pH 7.2		
	Sequenz ^[a]	%gef. ^[b]	%erw. ^[c]	Sequenz ^[a]	%gef. ^[b]	%erw. ^[c]
39	Arg-Arg-Arg	42	0.03	Arg-Arg-Arg	23	0.03
	Arg-Arg-S/T/C ^[d]	53	0.08	Arg-Arg-X	31	0.39
	Arg-X-Arg	0	0.39	Arg-X-Arg	31	0.39
	X-Arg-Arg	0	0.39	X-Arg-Arg	15	0.39
40	Arg-Arg-Arg	29	0.03	Arg-Arg-Arg	29	0.03
	Arg-Arg-X	35	0.39	Arg-Arg-X	14	0.39
	Arg-X-Arg	18	0.39	Arg-X-Arg	14	0.39
	X-Arg-Arg	18	0.39	X-Arg-Arg	29	0.39
41	Arg-Arg-Arg	0	0.03	geringe Kontraste, Selektivität für 1-2 Arginine		
	Arg-Arg-X	6	0.39			
	Arg-X-Arg	53	0.39			
	X-Arg-Arg	26	0.39			

^aX = beliebige Aminosäure ausser Arg; ^bDie %gef.-Kolonne weist die Häufigkeit mit der Beads der entsprechenden Sequenz gefunden wurden aus; ^cDie %erw.-Kolonne weist die Häufigkeit mit der Beads der entsprechenden Sequenz bei zufälliger Analyse erwartet würden aus; ^dS/T/C Serin, Threonin oder Cystein.

Tabelle 6: Gefundene argininreiche Sequenzen

Isolierung einiger der dunkelsten Harzkügelchen und anschliessende Analyse ihrer tags ergab die folgenden Sequenzen: Alle Rezeptoren binden dabei wie erwartet, selektiv an argininreiche Peptide. Andere Basen, Lysin und Histidin kommen in weniger als 10% aller gefundenen Sequenzen vor.

Die mit **41** bei neutralem pH-Wert erhaltenen Sequenzen mit den niedrigsten Selektivitäten, bestehen aus 1-2 Argininen und weiteren beliebigen Aminosäuren, bei einem pH-Wert von 12 steigert sich die Selektivität bereits soweit, dass in 85% der Sequenzen zwei Arginine beobachtet wurden. Eine weitere Steigerung der Selektivität kann mit den zweiarmligen Rezeptoren beobachtet werden, im Fall des acetylierten Rezeptors **40**, bestehen ca. 30% der Sequenzen aus drei Argininen. Bei neutralem pH-Wert, zeigen knapp 60% der restlichen Sequenzen zwei Arginine, unter basischen Bedingungen (pH 12) sind es sogar alle.

Die höchsten Selektivitäten wurden mit dem succinylierten zweiarmligen Rezeptor **39** bei pH 12 (0.01M NaOH) erhalten, hier wurde in 42% der Fälle die Sequenz Arg-Arg-Arg selektiert, weitere 53% der Harzkügelchen trugen die Sequenz Arg-Arg-S/T/C, wobei S/T/C eine der Aminosäuren Serin, Threonin oder Cystein war.

Die Selektivitäten steigen demnach mit höherem pH-Wert, vorallem aber bringt die Kombination von zwei Rezeptorarmen am rigiden Diketopiperazin eine Erhöhung der Selektivitäten mit sich.

7.3 Bindungsaffinitäten der Rezeptor-Peptid-Komplexe

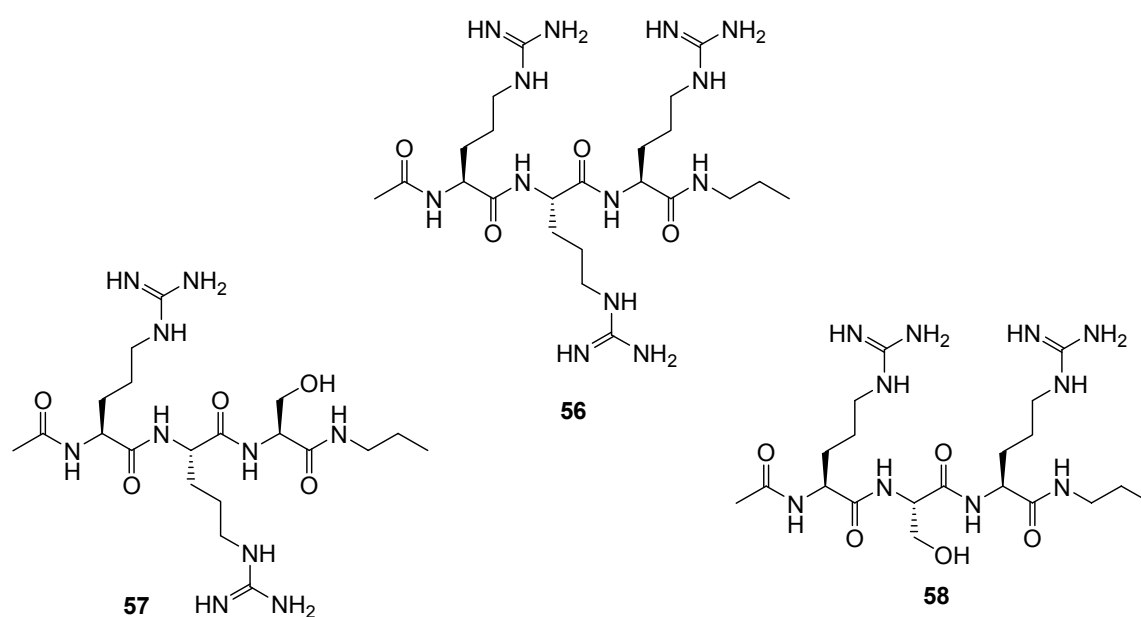


Abbildung 14: Argininreiche Gast-Peptide

Um die Bindungsaffinitäten der succinylierten Rezeptoren zu den gefundenen argininreichen Peptiden zu quantifizieren, wurden die drei argininreichen Gast-Peptide Ac-L-Arg-L-Arg-L-Arg-NHPr **56**, Ac-L-Arg-L-Arg-L-Ser-NHPr **57** und Ac-L-Arg-L-Ser-L-Arg-NHPr **58** mittels Festphasensynthese auf Wang-Harz unter Verwendung der Fmoc-Strategie^[43] hergestellt. Die Peptide wurden mit Propylamin als C-terminale Propylamide abgespalten und aufgereinigt, anschliessend wurden die säurelabilen Schutzgruppen der Seitenketten mit TFA abgespalten. Mit den Peptiden wurde zunächst versucht mit NMR-Titrationsen gleichzeitig Aussagen über Bindungskonstanten und den Bindungsmodus zu erhalten. Die Rezeptor-Peptid-Komplexe zeigten aber in unserem Fall sehr breite und damit nicht genau auswertbare Signale der Rezeptoren, aus diesem Grund konnten keine Informationen über die geometrische Anordnung der gebundenen Peptide erhalten werden.

Deshalb wurden die Bindungsaffinitäten mit Isothermischer Kalorimetrie (ITC) bestimmt. Isothermische Kalorimetrie beruht auf dem Prinzip, dass ein Bindungspartner portionenweise zum anderen Bindungspartner titriert wird und die Reaktionswärmen ΔH gemessen werden. Aus dem Verlauf der Änderungen der Reaktionswärmen kann die Gleichgewichtskonstante K und entsprechend ΔG , und damit der Entropische Beitrag ΔS ermittelt werden ($\Delta G = -RT \ln(K)$, $\Delta G = \Delta H - T\Delta S$). Die Stöchiometrie der Komplexe wird dabei entweder über eine externe Methode bestimmt und/oder über den besten Fit (beste Übereinstimmung zwischen dem gemessenen und den für die jeweilige Komplexstöchiometrie berechneten Verlauf der Reaktionswärmen).

Zur Bestimmung der Bindungsaffinitäten über ITC wurden die drei Gast-Peptide **56-58** jeweils zu den Rezeptoren **39** und **41** in 100 mM Tris·HCl Puffer bei pH 8.0 titriert und die dabei auftretenden Reaktionswärmen gemessen. Die Titrationsen wurden bei einem Rezeptor:Peptid-Verhältnis von 7:1 bis 1:10 mit einer Anfangskonzentration des Rezeptors von 200 μ M bei 25°C durchgeführt.

Die erhaltenen Daten der Bindung zwischen dem Rezeptor **39** und dem Peptid **56** deuten auf einen 1:1 Komplex mit einer Bindungsaffinität von $\Delta G = -5.7$ kcal/mol hin. Der Fit für einen 1:2 Komplex (oder noch höhere Stöchiometrie) weist einen weitaus höheren Fehler auf, trotzdem liegt die erste Stufe der Komplexbildung in derselben Grössenordnung wie die Bindungsaffinität des 1:1 Komplexes.

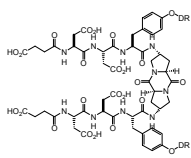
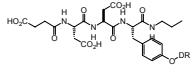
(Rez. : Pept.)	Arg-Arg-Arg 56	Arg-Arg-Ser 57	Arg-Ser-Arg 58
 <p>39</p>	$\Delta G = -5.7 \pm 0.1$ $\Delta H = -4.6 \pm 0.1$ $T\Delta S = 1.1$ (1 : 1)	$\Delta G = -3.7 \pm 0.1$ $\Delta H = -2.4 \pm 0.1$ $T\Delta S = 1.3$ (1 : 1)	$\Delta G = -3.9 \pm 0.1$ $\Delta H = -2.3 \pm 0.1$ $T\Delta S = 1.6$ (1 : 1)
 <p>41</p>	$\Delta G_1 = -5.5 \pm 0.1$ $\Delta H_1 = +2.5 \pm 0.1$ $T\Delta S_1 = 8.0$ $\Delta G_2 = -5.0 \pm 0.1$ $\Delta H_2 = -6.3 \pm 0.1$ $T\Delta S_2 = -1.3$ (1 : 2)	ΔH zu klein	ΔH zu klein

Tabelle 7: Zusammenstellung der Bindungsaffinitäten, alle Energien in kcal mol⁻¹

Für den Komplex zwischen dem einarmigen Rezeptor **41** und dem Peptid **56** legen die Daten eine 1:2 Stöchiometrie nahe, bei der zwei Peptide sequenziell an einen Rezeptor binden. Die Bindungsenergien liegen bei beiden Schritten in der selben Größenordnung ($\Delta G_1 = -5.5$ und $\Delta G_2 = -5.0$ kcal/mol), allerdings ist die treibende Kraft für die erste Stufe die Entropie, der Schritt ist mit $\Delta H_1 = +2.5$ kcal/mol endotherm, während die Reaktionsenthalpie $\Delta H_2 = -6.3$ kcal/mol für die zweite Komplexierungsstufe verantwortlich ist. Aus der Kombination der endo- resp. exothermen Komplexierungsschritte folgt daher eine enthalpisch beinahe neutrale Komplexbildung.

Für die Rezeptor-Peptid-Komplexe der serinhaltigen Peptide **57** und **58** mit dem zweiarmigen Rezeptor **39**, wurden für 1:1 Komplexe Bindungsaffinitäten im Bereich von $\Delta G = -3.7$ bis -3.9 kcal/mol erhalten. Der Beitrag der Entropie bleibt dabei im Bereich von $T\Delta S = 1.3$ bis 1.6 kcal/mol während die Enthalpie mit $\Delta H = -2.3$ bis -2.4 kcal/mol im Vergleich zum Arg-Arg-Arg-Peptid **56** geringer ist.

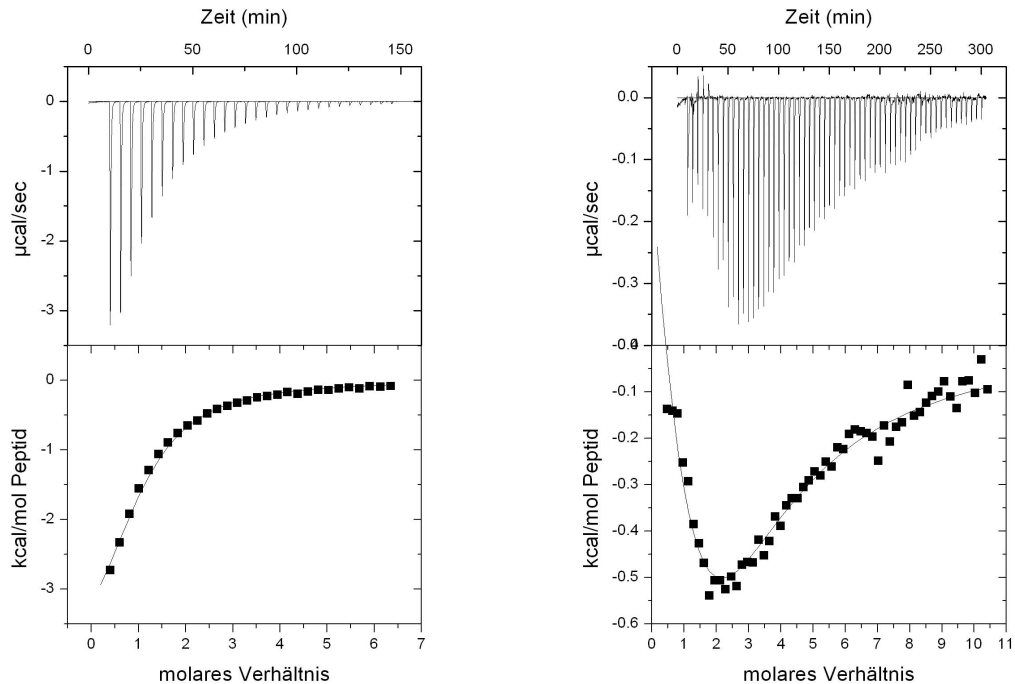


Abbildung 15: Mikrokalorimetrische Titrations des zweiarmigen **39** (links) bzw. des einarmigen Rezeptors **41** (rechts) gegen das Peptid **56**.

Titrationen der serinhaltigen Peptide gegen den einarmigen Rezeptor **41** ergaben auf Grund sehr kleiner Reaktionsenthalpien ein schlechtes Verhältnis von Signal zu Rauschen. Die geringen Reaktionenergien können zwei Ursachen haben, entweder ist die Bindung zu schwach um messbare Wärmemengen freizusetzen, oder der Prozess der Komplexierung läuft enthalpisch neutral ab.

Diese Daten zeigen, dass die Diketopiperazin-Rezeptoren in Wasser Peptide mit Bindungsaffinitäten im Bereich von $\Delta G = -5.7$ kcal/mol binden können. Für die Aufklärung der Bindungsmodi wären NMR-Studien oder Röntgenstrukturen hilfreich. Wie oben erwähnt, waren aber NMR-Studien in Folge breiter Signale nicht aussagekräftig und eine Kristallisation der Rezeptor-Peptid-Komplexe war bislang nicht erfolgreich.^[76]

8. Nichtkovalente Modifikationen der Rezeptoren^[77,78]

8.1 Stabilität der Rezeptor-Peptid Wechselwirkung auf fester Phase

Zur weiteren Untersuchung der Rezeptor-Peptid-Komplexe wurden die kombinatorischen Bindungsassays mit verschiedenen Lösungsmitteln und Reagenzien inkubiert. Dabei zeigte sich anhand der bestehendbleibenden Färbung der Beads, dass weder organische Lösungsmittel wie Hexan, Toluol, CH_2Cl_2 , THF, DMF, 2-PrOH und MeOH, noch 10% Essigsäure in CH_2Cl_2 , THF und MeOH oder 1% Et_3N bzw. PrNH_2 in CH_2Cl_2 , THF und MeOH in der Lage waren die Komplexe aufzubrechen. Wurden allerdings Tenside wie Di-hexadecyl-dimethylammonium bromid (DiC_{16}^+) in wässrigem THF zu den Bindungsassays gegeben, so verschwand die rote Färbung innerhalb von Sekunden von den Beads. So zeigte sich eindrücklich, dass es möglich ist, die Bindungsaffinität der Rezeptoren zu den argininreichen Peptiden durch Zugabe von Ammoniumtensiden stark zu erniedrigen.

8.2 Rezeptor-Tensid Komplexe

Um die Wechselwirkungen zwischen Tensid und den farbstoffmarkierten Rezeptoren genau zu untersuchen wurden equimolare Mengen, bezogen auf die Carbonsäuren, verschiedener Tenside^[79] zu den in Wasser gelösten Rezeptoren **39** und **41** gegeben. Dadurch fielen die vier verschiedenen Komplexe des Rezeptors **41** sowie die C_{16}^+ und DiC_{16}^+ -Komplexe des Rezeptors **39** aus. Die Komplexierung war in den letztgenannten beiden Fällen sogar so stark, dass sich die Lösung komplett entfärbte.

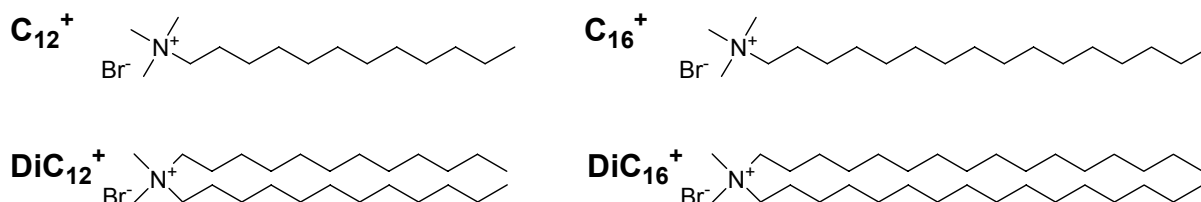


Abbildung 16: Eingesetzte Ammoniumtenside für die Rezeptor-Tensid Komplexe

Nach Zentrifugieren, Filtrieren und Trocknen des Niederschlags wurde ein Festkörper von weicher Beschaffenheit erhalten, welcher in organischen Lösungsmittel sehr gut löslich ist.

8.3 Flüssigkristalline Eigenschaften der Rezeptor-Tensid Komplexe

Um die strukturellen Eigenschaften der weichen Festkörper aufzuklären, wurden in Zusammenarbeit mit Dr. C. Faul (MPI Golm, Deutschland) Röntgenstreuungsexperimente durchgeführt.

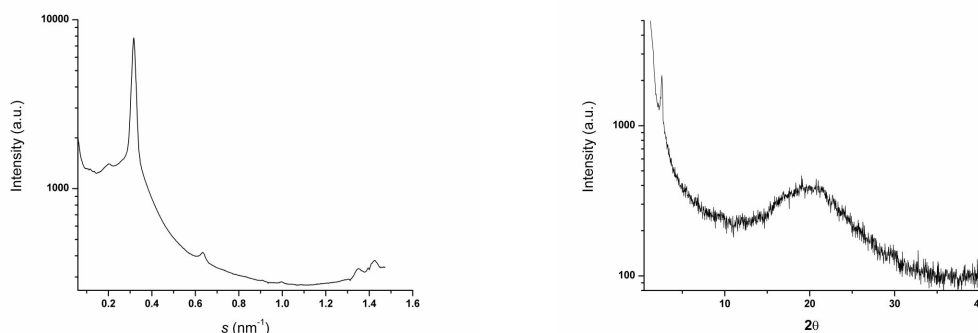


Abbildung 17: Daten des Kleinwinkel-Röntgenstreuungsexperiment (SAXS, links) und Weitwinkel-Röntgenstreuungsexperiment (WAXS, rechts)

Weitwinkel- (WAXS) wie auch Kleinwinkel-Röntgenstreuungsexperimente (SAXS) der Rezeptor-Tensid-Komplexe zwischen dem zweiarmligen Rezeptor **39** und den C_{16}^+ - und DiC_{16}^+ -Tensiden gaben starke Hinweise auf flüssigkristalline Eigenschaften und eine lamellare Anordnung der Komplexe.^[80]

Die Schichtdicken betrugen dabei im Fall des Komplexes mit dem C_{16}^+ -Tensid $d_1 = 2.46$ nm und $d_2 = 0.85$ nm und mit dem DiC_{16}^+ -Tensid $d_1 = 2.38$ nm und $d_2 = 0.74$ nm.

Komplex	d	d_1	d_2
39 - C_{16}^+	3.31 nm	2.46 nm	0.85 nm
39 - DiC_{16}^+	3.12 nm	2.38 nm	0.74 nm

Tabelle 8: Übersicht über die Schichtdicken in den Komplexen von **39**

Die Schichtdicke d_1 stimmt ungefähr mit der Länge der Tensid-Alkylketten überein und d_2 ist in der Größenordnung des Abstandes der Rezeptorarme am Diketopiperazin-Gerüst.

Durch die Komplexierung der Rezeptoren mit Tensiden, konnten nicht nur deren Bindungseigenschaften dramatisch verändert werden, die flüssigkristallinen Eigenschaften lassen auch an weitere Verwendungszwecke dieser Substanzklasse im Bereich der Opto-Elektronik denken.

9. Diketopiperazin-Rezeptoren als Gassensoren^[81,62]

Ein weiteres interessantes Anwendungsgebiet der molekularen Erkennung ist der Nachweis organischer flüchtiger Verbindungen (VOC's). Wichtige Kriterien für solche Sensoren sind dabei Robustheit und Empfindlichkeit, mögliche Miniaturisierung, Ansprechzeit resp. Messzeit und Unterhalt. Mit Mikrowaagen auf der Basis von beschichteten Schwingquarzen^[82] können diese Kriterien optimal erfüllt werden.^[81] Mit diesen Mikrowaagen können die verschiedensten Stoffe nachgewiesen werden, so sind Beispiele für den Nachweis von Ammoniak (<10ppm)^[83] oder Pestiziden in der Landwirtschaft,^[84] der Überwachung von Konzentrationen gefährlicher Stoffe am Arbeitsplatz^[85] oder des Reifungsprozesses geernteter Früchte^[86] bekannt.

9.1 Theoretischer Hintergrund von Quarzmikrowaagen

Schwingquarze sind elektronische Bauteile, bestehend aus einer dünnen Scheibe eines Quarzkristalls und je einer auf beiden Seiten angebrachten Elektrode. Die Resonanzfrequenz des Kristalls kann durch Anlegen von Wechselspannung an die Elektroden gemessen werden und ist abhängig von der Dicke und Masse des Kristalls. Werden die Kristalle mit Rezeptoren beschichtet, so kann die Menge eines gebundenen Gastes durch die Erniedrigung der Resonanzfrequenz bestimmt werden, da sich die Masse des Schwingquarzes durch den gebundenen Gast erhöht. Frequenzänderungen können sehr genau gemessen werden und erlauben demnach eine hohe Empfindlichkeit der Sensoren. Die Selektivität der Sensoren wird durch mehrere, mit verschiedenen Rezeptoren beschichtete Schwingquarze erreicht. Verschiedene Ansprechfaktoren der Rezeptoren lassen sich dabei über computer-gestützte Mustererkennung dafür ausnutzen, den jeweiligen Gast nicht nur zu quantifizieren, sondern auch zu identifizieren. Durch das Zusammenspiel mehrerer Quarze mit verschiedenen Beschichtungen sind hochselektive Rezeptoren nicht notwendig.

9.2 Herstellung der Quarzmikrowaagen

Die Schwingquarze wurden auf einer Seite beschichtet, indem die Rezeptoren in polaren Lösungsmitteln wie THF gelöst und mit einer Spritze, an die ein Potential von 2-3 kV angelegt war aufgesprüht wurden. Der Vorgang hat Ähnlichkeiten mit der Elektrospray-Ionisation (ESI) in der Massenspektrometrie. Die Schichtdicke wurde

kontrolliert, indem man gleichzeitig zum Sprühvorgang die Resonanzfrequenz des Quarzes mass und die Beschichtung bis zu einer Erniedrigung der Quarzeigenfrequenz (10 MHz) um 10 kHz durchführte.

Für die Beschichtung der Quarzkristalle wurden zweiarmige, symmetrische Diketopiperazin-Rezeptoren verwendet.

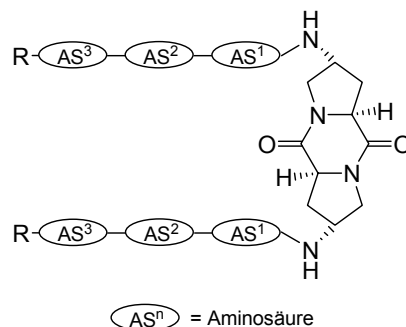


Abbildung 18: Generelle Struktur der verwendeten Diketopiperazin-Rezeptoren

Die Rezeptoren wurden dazu analog zu **39** (siehe auch Kapitel 7.1 Synthese) synthetisiert.

Rez.	R ^[a]	AS ^{3[b]}	AS ^{2[b]}	AS ^{1[b]}
59	Fmoc	-	L-Glu(O ^t Bu)	D-Tyr(DR)
60	Fmoc	-	L-Glu	D-Tyr(DR)
61	Fmoc	L-Lys(Boc)	L-His(Trt)	D-Tyr(DR)
62	Fmoc	L-Lys	L-His	D-Tyr(DR)
63	Boc	-	-	-

^aLigand steht für eine zweifach *tert.*-Butylester geschützte Nitrilotriessigsäure; ^b – steht für keine Aminosäure in dieser Position.

Tabelle 9: Diketopiperazin-Rezeptoren für die Beschichtung der Schwingquarze

9.3 Bindungsverhalten der Rezeptoren gegenüber Alkoholen

Um die Ansprechfaktoren zu bestimmen, wurden die beschichteten Schwingquarze steigenden Konzentrationen der verschiedenen Analyten ausgesetzt und die über weite Bereiche lineare^[87] Frequenzabnahme gemessen; exemplarisch dargestellt für **59** gegenüber Ethanol (Abbildung 19).

Ein Vergleich der Ansprechfaktoren der Rezeptoren mit vier verschiedenen Alkoholen (Methanol, Ethanol, 1-Propanol und 2-Propanol) zeigt dabei das unterschiedliche Bindungsverhalten der Rezeptoren, obwohl keiner nur einen

einzigsten der Alkohole bindet, können doch verschiedene Verhaltensmuster ausgemacht werden (Abbildung 20).

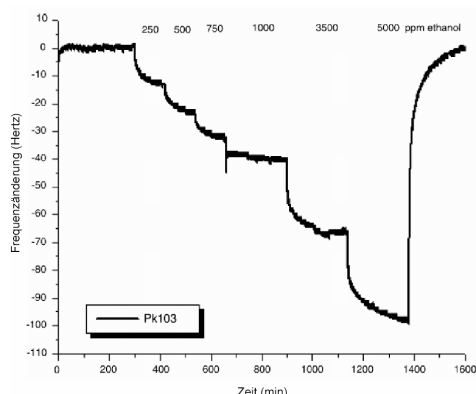
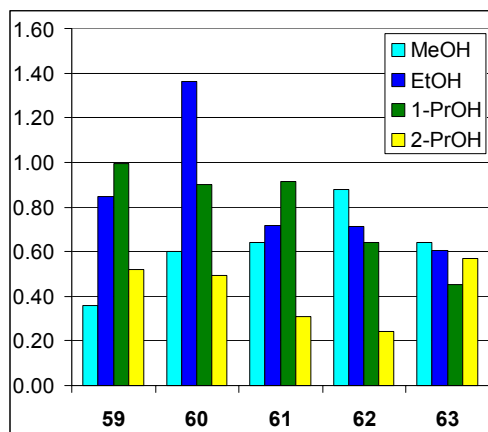


Abbildung 19: Frequenzänderung einer mit **59** beschichteten Quarzmikrowaage in Abhängigkeit der Ethanol-Konzentration

So bindet z.B. **60** verglichen mit den anderen Rezeptoren Ethanol besonders gut, während der analoge, aber seitenkettengeschützte Rezeptor **59** 1-PrOH ungefähr gleich gut bindet. Boc-geschütztes Diketopiperazin (**63**) bindet im Gegensatz zu den vier anderen aufgeführten Rezeptoren alle Alkohole ungefähr gleich gut.



	MeOH	EtOH	1-PrOH	2-PrOH
59	0.36	0.85	1.00	0.52
60	0.60	1.36	0.90	0.49
61	0.64	0.72	0.91	0.31
62	0.88	0.71	0.64	0.24
63	0.64	0.60	0.45	0.57

Abbildung 20: Molare Ansprechfaktoren der Rezeptoren in $10^3 \text{ Hz mol ppm}^{-1} \text{ g}^{-1}$)

Mit keinem der Rezeptoren allein kann ein Analyt identifiziert und quantifiziert werden, aufgrund der verschiedenen Eigenschaften, ist dies jedoch mit mehreren verschieden beschichteten Quarzen möglich, dazu werden sogenannte Erkennungsmuster der verschiedenen Analyten gespeichert, mit deren Hilfe später selbst Mischungen verschiedener Analyte quantitativ bestimmt werden können. Eine anschauliche Darstellung solcher Erkennungsmuster sind dabei Stern-diagramme (Abbildung 21).

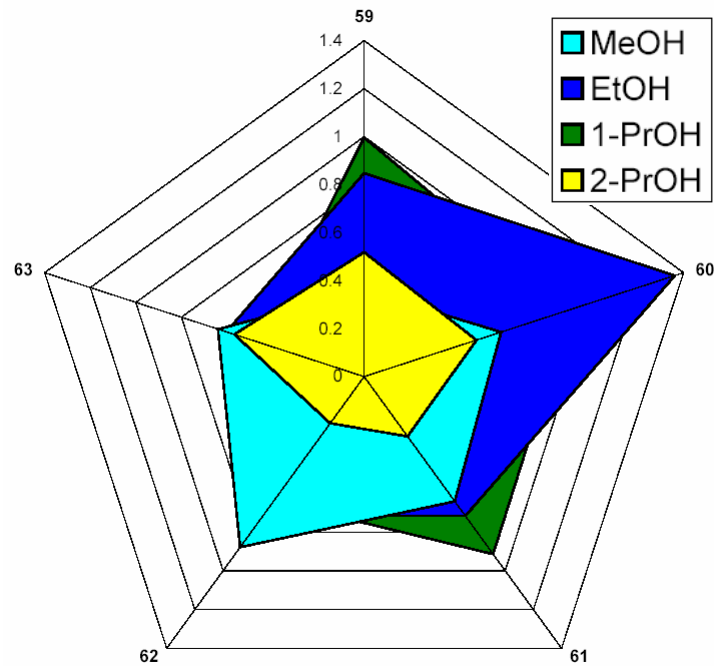


Abbildung 21: Erkennungsmuster für 4 Alkohole (Sterndiagramm)

Die bislang gemessenen Konzentrationen befinden sich aus technischen Gründen im Bereich von 250 bis 2500 ppm, dies ist der Bereich, welcher mit der verwendeten Apparatur noch genau eingestellt werden kann. Da Frequenzen, selbst im Bereich von 10 MHz aber mit einer grossen Genauigkeit bestimmt werden können (<2 Hz, bei 10 MHz) sind die Detektionsgrenzen bedeutend niedriger und liegen für alle gemessenen Analyten deutlich unter den MAK-Werten^[88] (Tabelle 10).

Analyt	MAK-Wert ^[85] [ppm]	Konzentration [ppm] bei 2 Hz	Rezeptor
Methanol	200	71	62
Ethanol	500	32	60
1-PrOH	200	33	59
2-PrOH	200	59	63

Tabelle 10: Vergleich der MAK-Werten mit den messbaren Konzentrationen

Aus Gründen der Übersichtlichkeit wurde nur eine kleine Auswahl der Rezeptoren und ihr Bindungsverhalten gegenüber vier aliphatischer Alkoholen vorgestellt, weitere Rezeptoren, sowie Daten gegenüber anderen Analyten, wie Carbonsäuren und Carbonsäureestern können [62] und [89] entnommen werden.

10. Zusammenfassung und Ausblick

Die in der Wennemers-Gruppe entwickelte Klasse der Diketopiparzin-Rezeptoren^[68] wurde verwendet um Tripeptide selektiv in wässrigen Lösungen zu erkennen. Carbonsäurereiche Rezeptoren zeigten hohe Selektivitäten für Arg-Arg-Arg, wie auch für Arg-Arg-Ser/Thr/Cys mit Bindungsaffinitäten von bis zu $\Delta G = -5.7$ kcal/mol. Damit konnte gezeigt werden, dass diese Klasse von Rezeptoren auch in Wasser Peptide selektiv erkennen kann.

Die Bindungen zwischen den Rezeptoren und den Arginin reichen Peptiden sind dabei aussergewöhnlich stabil gegenüber verschiedenen organischen Lösungsmitteln, sowie Carbonsäuren und Aminen. Einzig die Zugabe von Ammonium-Tensiden, liess die Rezeptor-Peptid Komplexe sofort aufbrechen. Dass die Tenside mit den Rezeptoren dabei selbst stabile Komplexe bilden, zeigte sich durch einen kompletten Niederschlag der Komplexe bei Zugabe von Tensiden zu den Rezeptoren in Lösung. Die Untersuchung des Niederschlags mit Röntgenstreuungsexperimenten zeigte flüssigkristalline Eigenschaften und lamellare Anordnungen der Rezeptor-Tensid-Komplexe.

Mit verschiedenen Diketopiperazin-Rezeptoren beschichtete Schwingquarze wurden im weiteren als „chemische Nasen“ für flüchtige organische Verbindungen (VOC's) eingesetzt. Die nach dem Prinzip von molekularen Waagen arbeitenden elektronischen Bauteile wurden auf ihr Ansprechverhalten gegenüber diversen Alkoholen, Carbonsäuren oder auch Carbonsäureestern getestet. Mit Anordnungen mehrerer Gassensoren konnten z.B. homologe Alkohole in Konzentrationen im ppm-Bereich identifiziert und quantifiziert werden.

Die vorgestellten Rezeptoren wurden bereits in einem breiten Bereich von möglichen Anwendungsgebieten untersucht. Ihre Eigenschaft Peptide selektiv zu binden, könnten sie z.B. als Diagnostika interessant machen. Oder sie könnten dazu verwendet werden, kovalent an die Rezeptoren gebundene Metallkomplexe als proteolytisch aktive Elemente regioselektiv wirken zu lassen. Die so erhaltenen Modell-Proteasen könnten z.B. zur Sequenzierung von Proteinen eingesetzt werden. Eine, wenn möglich reversible Makrozyklisierung der Rezeptoren könnte nicht nur zu noch höheren, sondern auch zu veränderten Bindungsselektivitäten führen. Denkbar ist, dass die Komplexierung der schaltbaren Rezeptoren mit Tensiden einen Einfluss

auf die flüssigkristallinen Eigenschaften der Komplexe hat. Unter Umständen wäre die Verbindung in der offenen Form flüssigkristallin und in der geschlossenen amorph oder ihre lamellare Anordnung könnte sich z.B. in eine columnare umwandeln.

Die Verwendung der Rezeptoren als Erkennungselemente auf Schwingquarzen und damit der Einsatz als Gassensoren könnte ein weiteres Feld von Anwendungen öffnen. Wie schon gezeigt wurde, können mit den „chemischen Nasen“ verschiedene flüchtige Verbindungen im unteren ppm-Bereich nachgewiesen werden, eine Verwendung der Sensoren zur Überwachung der Abluft von Industrieanlagen aber auch der Reifungsprozesse Land- und Milchwirtschaftlicher Produkte ist dabei denkbar.

Teil C

Experimenteller Teil

11. Geräte und Materialien

Dünnschichtchromatographische Analysen wurden auf Merck Kieselgel 60 F₂₅₄ – Platten durchgeführt und mittels UV, Cerammoniummolybdat (CAM), und Ninhydrin detektiert. Flashchromatographie wurde mit Merck Kieselgel 60 (40-63µm) durchgeführt. ¹H und ¹³C NMR-Spektren wurden auf Bruker DPX 500, DPX 400 und av250 Spektrometern, ¹⁹F NMR-Spektren auf einem Bruker DPX 400 aufgenommen. Chemische Verschiebungen wurden in ppm angegeben, für ¹H und ¹³C-Spektren diente das Lösungsmittelsignal als Referenz, ¹⁹F-Spektren sind extern referenziert. Waren diastereotope Protonen vorhanden, so erhielt das hochfeldverschobene Proton, sofern aufgelöst, die Kennzeichnung " ' ", bei mehreren Aminosäuren des gleichen Typs wurde analog verfahren. Finnigan MAT LCQ und Bruker esquire 3000plus Geräte wurden für die Elektrosprayionisation (ESI) Massenspektrometrie, ein Voyager DE Pro von PerSeptive Biosystems für Maldi-TOF, Finnigan MAT 312 für FAB- und Finnigan MAT 95Q für EI-Massenspektrometrie verwendet. Infrarotspektroskopische Messungen wurden auf einem Perkin-Elmer 1600 Series FTIR und UV-Spektroskopie auf einem Perkin Elmer Lambda Bio 40 durchgeführt. HPLC-Analysen wurden auf LiChrospher 100 RP-18e 5µm (250mm x 4.6mm) von Merck, Nucleosil 100-5 (250mm x 4.6mm) von Macherey-Nagel und Chiralcel AS, AD oder OD-H (250mm x 4.6mm) von Daicel durchgeführt. Präparative HPLC wurde auf einer LiChrospher 100 RP-18e 5µm (250mm x 10mm) bzw. einer LiChrospher Si 60 5 µm (250mm x 10mm) von Merck durchgeführt. Die Analyse der tag-Alkohole wurde mit einem Gaschromatographen von Hewlett Packard (Agilent, 6890) mit cold on-column Injektor und einem µEC-Detektor auf einer HP Ultra 1 (Methylsiloxan) Kapillare (25 m, 0.2 mm, 0.33 µm) durchgeführt. Für die chirale Gaschromatographie wurden β-Cyclodextrin-Säulen (SE54) von Brechbühler (25 m, 0.25 mm, 0.25 µm) und FS-Hydrodex β-3P-Heptakis-(2,6-di-O-methyl-3-O-pentyl)-β-cyclodextrin von Macherey-Nagel (25 m, 0.25 mm, 0.25 µm) verwendet. Kalorimetrische Messungen wurden auf einem VP-ITC von MicroCal durchgeführt und mit der mitgelieferten Software basierend auf Origin 7.0 mittels least-square fits ausgewertet. TentaGel-, PEGA- und Spar-Harze wurden von Rapp Polymere, (Deutschland), Chlorotrityl-Harz von Bachem (Schweiz), Wang- bzw. Rink-Amid-Polystyrolharze von Novabiochem (Merck Biosciences) (Schweiz) und Ionentauscherharze (Dowex® 1x2-400) von Sigma-Aldrich bezogen.

12. Allgemeine Protokolle

12.1 Protokolle der Festphasen-Synthese

12.1 a) Protokoll A, Kupplungen auf aminofunktionalisiertes Harz:

Die Carbonsäure (2-3 eq) und HOBt (3 eq) gelöst in der minimal nötigen Menge DMF, wurden zur Suspension aus aminofunktionalisiertem Harz in CH_2Cl_2 gegeben. Die Mischung wurde für 2 min. in einem Merryfield-Kolben geschüttelt bevor man DIC (3-5 eq) zugab und weitere 2 h schüttelte. Die Suspension wurde dreimal mit CH_2Cl_2 gewaschen. Die Vollständigkeit der Kupplung wurde mittels Kaiser-Test,^[90] die aktuelle Beladung stichprobenweise mittels quantitativem Fmoc-Test^[91] überprüft.

12.1 b) Protokoll B, Fmoc-Entschützung:

20% Piperidin in DMF wurden zum Harz gegeben, die Reaktionsmischung 2 min. geschüttelt, die Lösung entfernt und das Harz für weitere 10 min. mit Piperidin-Lsg. behandelt. Danach wurde das Harz mit DMF (3 x) und CH_2Cl_2 (5 x) gewaschen.

12.1 c) Protokoll C, Boc-Entschützung:

20% TFA in CH_2Cl_2 wurden zum Harz gegeben, die Reaktionsmischung 10 min. geschüttelt, die Lösung entfernt und das Harz für weitere 30 min. mit der TFA-Lsg. behandelt. Danach wurde das Harz dreimal mit CH_2Cl_2 , zweimal mit $\text{CH}_2\text{Cl}_2/10\%$ Et_3N und weitere fünfmal mit CH_2Cl_2 gewaschen.

12.1 d) Protokoll D, tag-Kupplung:

Die tag-Carbonsäure (2 mol%) und HOBt (1.0 eq) gelöst in der minimal nötigen Menge DMF, wurden zur Suspension aus aminofunktionalisiertem Harz in CH_2Cl_2 gegeben. Die Mischung wurde für 2 min. in einem Merryfield-Kolben geschüttelt bevor man DIC (1.0 eq) zugab und weitere 12 h schüttelte. Die Suspension wurde dreimal mit CH_2Cl_2 gewaschen und die Kupplung überprüft, indem man 2 Beads separiert in je eine 20 μl Mikrokapillare überführte. Die Beads wurden mit zweimal 5 μl DMF gewaschen und in 2.5 μl DMF für 2 h UV-Licht ausgesetzt. Danach wurden die Tagalkohol-Lsg. in situ mit BSA silyliert und direkt mittels GC-ECD auf genügend Intensität analysiert

12.1 e) Protokoll E, Alloc-Entschützung:

Das Harz wurde in CH_2Cl_2 (~5 ml/g) suspendiert, mit Pyrrolidin (3 eq) versetzt und während 5 min. im Argonstrom entgast. Anschliessend wurde 3 mol% $\text{Pd}(\text{PPh}_3)_4$ zugesetzt und das ganze für 2 h im Merryfield-Kolben geschüttelt. Die Reaktionslösung wurde dreimal mit CH_2Cl_2 ausgewaschen und die ganze Prozedur noch einmal wiederholt.

12.1 f) Protokoll F, Entschützung von Bibliotheken:

Das Harz wurde in einem Merryfield-Kolben mit TFA / Phenol / Thioanisol / Wasser / Triisopropylsilan (84% / 5% / 5% / 5% / 1%, 6 ml/g) versetzt. Nach 1 min. wurde das Harz abfiltriert und noch zweimal für 5 min. und 75 min. mit dem Entschützung-Cocktail behandelt. Anschliessend wurde das Harz dreimal mit CH_2Cl_2 , dreimal mit $\text{CH}_2\text{Cl}_2/10\%$ Et_3N und nochmals fünfmal mit CH_2Cl_2 gewaschen und abschliessend i.V. getrocknet.

12.2 Protokoll für die kombinatorischen Acylierungs-Assays

Ca. 5 mg (1.2 μmol , 1.0 eq) Bibliothek und 1.0 mg (1.9 μmol , 1.5 eq) **6** wurden in ein 1.5 ml Eppendorf Gefäss eingewogen und in 1.0 ml Lösungsmittel mittels Ultraschall suspendiert resp. gelöst. Die Reaktionen wurden bei 25°C in Eppendorf-Schüttlern für 75 min. gut gemixt, anschliessend wurde das Harz in eine 2 ml Spritze mit Fritte überführt und intensiv gewaschen. Typisches Waschprotokoll: CH_2Cl_2 (6x), DMF (3x) CH_2Cl_2 (3x), $\text{CH}_2\text{Cl}_2:\text{TFA}$ (3:1) (3x), CH_2Cl_2 (3x), $^i\text{PrOH}:\text{NEt}_3$ (3:1) (3x), $^i\text{PrOH}$ (3x); 1 ml jeweils 1-2 min. Beads welche eine intensive rote Farbe angenommen hatten wurden anschliessend unter einem Mikroskop separiert und getrennt in 20 μl Kappillaren überführt. Die Beads wurden mit zweimal 5 μl DMF gewaschen und in 2.5 μl DMF für 2 h UV-Licht ausgesetzt. Danach wurde die tagalkohol-Lsg. in situ mit BSA silyliert und direkt mittels GC-ECD analysiert.

12.3 Protokoll für die kombinatorischen Aldol-Assays

Ca. 10 mg Tetrapeptid-Bibliothek, 7 mg Tripeptid-Bibliothek oder 2 mg Dipeptid-bibliothek und 0.5 mg (1.1 μmol) **24** wurden in ein 1.5 ml Eppendorf Gefäss eingewogen und in 0.5 ml Lösungsmittel mittels Ultraschall suspendiert resp. gelöst. Die Reaktionen wurden bei 25°C in Eppendorf-Schüttlern für 2 h (24 h für wässrige Lösungen) gut gemixt und anschliessend das Harz in eine 2 ml Spritze mit Fritte

überführt und sofort intensiv gewaschen. Typisches Waschprotokoll: CH₂Cl₂ (6x), DMF (3x), CH₂Cl₂ (3x), CH₂Cl₂ / TFA (3:1) (3x), CH₂Cl₂ (3x), 1M HCl (aq) (3x), DMF (3x), ⁱPrOH / NEt₃ (3:1) (3x), ⁱPrOH (3x); 1ml jeweils 1-2 min. Beads welche eine intensive rote Farbe angenommen hatten wurden anschliessend unter einem Mikroskop separiert und getrennt in 20 µl Kappillaren überführt. Die Beads wurden mit zweimal 5 µl DMF gewaschen und in 2.5 µl DMF für 2 h UV-Licht ausgesetzt. Danach wurde die tagalkohol-Lsg. in situ mit BSA silyliert und direkt mittels GC-ECD analysiert.

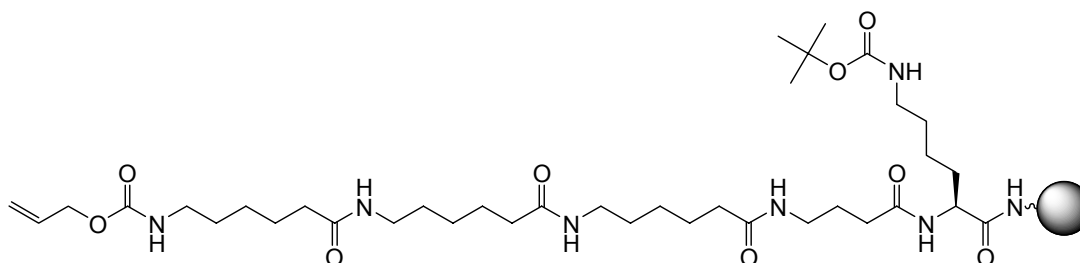
12.4 Protokoll der kinetische NMR-Studien der Acylierungsreaktionen

Das Peptid (13 µmol, 10 mol%) wurde in einem NMR-Röhrchen in einer Mischung von 400 µl CD₂Cl₂ und 100 µl DMF gelöst. Anschliessend wurden 13.5 µl Benzylalkohol (130 µmol, 1.0 eq) und 19.5 µl NEt₃ (130 µmol, 1.0 eq) zugegeben und gut durchmixt. Nach der Zugabe von 47.1 mg p-Nitrophenylacetat (260 µmol, 2.0 eq), wurden erst alle 3 h, später alle 12 h ¹H-NMR-Spektren aufgenommen. Die Daten wurden mit einer Exponentialfunktion gefittet.

$$\text{Umsatz (\%)} = 100 (1 - e^{-kt})$$

13. Synthese der Bibliotheken

13.1 Synthese des zweiarmigen Linkers



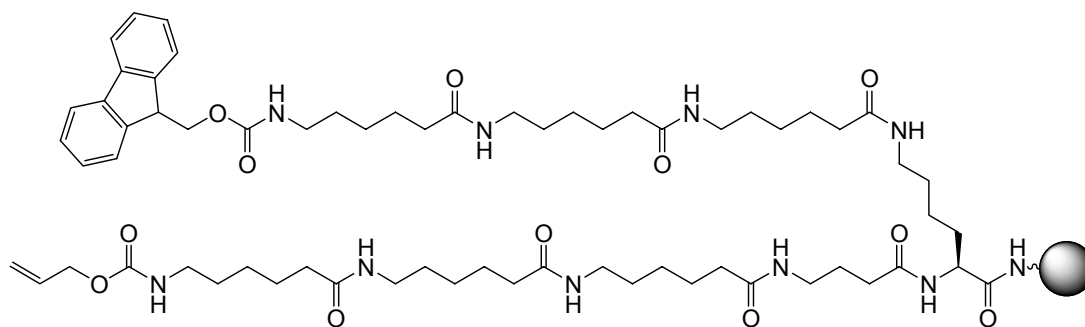
13.1 a) Synthese des Linker-Fragments 2

20 g (5.4 mmol, 1.0 eq) TentaGel-Harz (0.27 mmol/g, No. 121.717) wurden gemäss Protokoll A mit Fmoc-L-Lys(Boc)-OH funktionalisiert; 7.59 g (16.2 mmol, 3.0 eq) Fmoc-L-Lys(Boc)-OH, 2.48 g (16.2 mmol, 3.0 eq) HOBt, gelöst in 5 ml DMF, 2.5 ml (16.2 mmol, 3.0 eq) DIC, 80 ml CH₂Cl₂, 2 h, rt. Fmoc-Test: 0.26 mmol/g.

Nach Fmoc-Entschützung (Protokoll B) wurde analog Fmoc- γ Abu-OH gekuppelt; 5.27 g (16.2 mmol, 3.0 eq) Fmoc- γ Abu-OH, 2.48 g (16.2 mmol, 3.0 eq) HOBt, gelöst in 5 ml DMF, 2.5 ml (16.2 mmol, 3.0 eq) DIC, 80 ml CH₂Cl₂, 2 h, rt.

Anschliessend wurde dreimal abwechselnd Fmoc entschützt (Protokoll B) und Fmoc- ϵ Ahx-OH gekuppelt (Protokoll A); jeweils 5.72 g (16.2 mmol, 3.0 eq) Fmoc- ϵ Ahx-OH, 2.48 g (16.2 mmol, 3.0 eq) HOBt, gelöst in 5 ml DMF, 2.5 ml (16.2 mmol, 3.0 eq) DIC, 80 ml CH₂Cl₂, 2 h, rt.

Um den ersten Arm abzuschliessen wurden die Fmoc-Schutzgruppen abgespalten (Protokoll B) und der freie N-Terminus Alloc-geschützt: 2.25 ml (16.2 mmol, 3.0 eq) Et₃N wurden mit dem in CH₂Cl₂ suspendierten Harz vermischt und portionenweise mit 1.15 ml (10.8 mmol, 2.0 eq) Allylchloroformiat versetzt. Nach 30 min. wurde das Harz dreimal mit je 80 ml CH₂Cl₂ gewaschen und die vollständige Kupplung mittels Kaiser-Test^[90] überprüft.



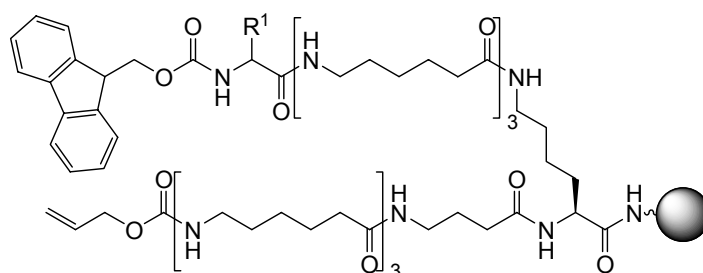
13.1 b) Synthese des Linkers 3

Die Lysin-Seitenkette von **2** wurde Boc-entschützt und um drei Einheiten ϵ Ahx verlängert. Gemäss Protokoll C wurde mit 100 ml CH_2Cl_2 /20% TFA Boc entschützt und das freie Amin der Lysinseitenkette wurde mit Fmoc- ϵ Ahx-OH funktionalisiert; 5.72 g (16.2 mmol, 3.0 eq) Fmoc- ϵ Ahx-OH, 2.48 g (16.2 mmol, 3.0 eq) HOBt, gelöst in 5 ml DMF, 2.5 ml (16.2 mmol, 3.0 eq) DIC, 80 ml CH_2Cl_2 , 2 h, rt.

Anschliessend wurde zweimal abwechselnd Fmoc entschützt (Protokoll B) und Fmoc- ϵ Ahx-OH gekuppelt (Protokoll A); jeweils 5.72 g (16.2 mmol, 3.0 eq) Fmoc- ϵ Ahx-OH, 2.48 g (16.2 mmol, 3.0 eq) HOBt, gelöst in 5 ml DMF, 2.5 ml (16.2 mmol, 3.0 eq) DIC, 80 ml CH_2Cl_2 , 2 h, rt.

Man erhielt 27 g Harz mit einer Fmoc-Beladung von 0.195 mmol/g (96%).

13.2. Aufbau der Bibliothek mittels split-und-mix Synthese



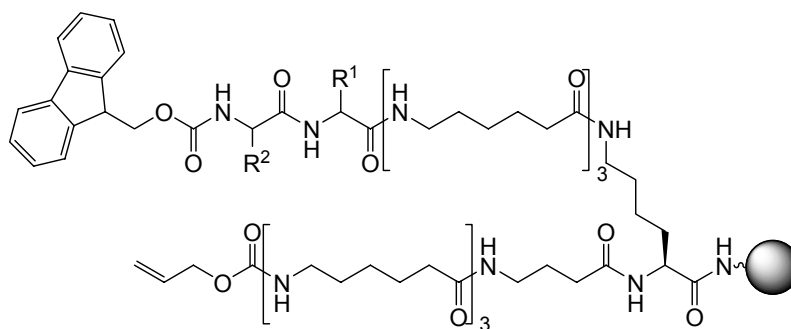
13.2 a) Kupplung der ersten Aminosäure (64)

13.5 g (2.7 mmol) **3** wurden gemäss Protokoll B Fmoc entschützt und in 15 gleichgrosse Portionen (je 180 μmol , 1.0 eq) aufgeteilt. Die tags wurden gekuppelt (Protokoll D) indem man 4 Lösungen (DMF) herstellte und jeweils 0.5 ml Lsg. verwendete; je Kolben 5 ml CH_2Cl_2 , 330 μl einer Lösung von 413 mg HOBt in 5 ml DMF, 330 μl einer Lösung von 4.25 ml DIC in 4.25 ml CH_2Cl_2 für 12h. Anschliessend wurde die Intensität gemäss Protokoll D überprüft.

tag		Mw (g/mol)	Menge (in 5 ml)	Anteil tag
T ¹	C ₉ -Cl ₅	632.72	22.8 mg	2 mol%
T ²	C ₁₀ -Cl ₅	646.74	23.3 mg	2 mol%
T ³	C ₁₁ -Cl ₅	660.77	23.8 mg	2 mol%
T ⁴	C ₁₂ -Cl ₅	674.80	24.3 mg	2 mol%

Die anschliessende Kupplung (Protokoll A) der Fmoc-Aminosäuren erfolgte zur Sicherheit zweimal hintereinander. Pro Reaktion und Gefäss wurden 5 ml CH₂Cl₂, 300 µl einer Lösung von 1.25 g (3.0 eq) HOBt in 5 ml DMF, die unten aufgeführte Menge Fmoc-Aminosäure (540 µmol, 3 eq) und 85 µl DIC verwendet. Nach 2 h wurden die Reaktionslösungen ausgewaschen und die Kupplungen wiederholt, anschliessend wurden die 15 Portionen vereinigt.

AS	Mw	mg AS	tags	tag-code
Fmoc-Gly-OH	297.3	161	T ⁴	0001
Fmoc-L-Ala-OH	311.3	168	T ³	0010
Fmoc-D-Val-OH	339.4	183	T ³ + T ⁴	0011
Fmoc-L-Leu-OH	353.4	191	T ²	0100
Fmoc-D-Pro-OH	337.4	182	T ² + T ⁴	0101
Fmoc-L-Pro-OH	337.4	182	T ² + T ³	0110
Fmoc-D-Phe-OH	387.4	209	T ² + T ³ + T ⁴	0111
Fmoc-L-Tyr(^t Bu)-OH	459.6	248	T ¹	1000
Fmoc-D-His(Trt)-OH	619.7	335	T ¹ + T ⁴	1001
Fmoc-L-His(Trt)-OH	619.7	335	T ¹ + T ³	1010
Fmoc-D-Asp(O ^t Bu)-OH	411.5	222	T ¹ + T ³ + T ⁴	1011
Fmoc-L-Glu(O ^t Bu)-OH	425.5	230	T ¹ + T ²	1100
Fmoc-D-Arg(Pmc)-OH	662.8	358	T ¹ + T ² + T ⁴	1101
Fmoc-L-Gln(Trt)-OH	610.7	330	T ¹ + T ² + T ³	1110
Fmoc-D-Asn(Trt)-OH	596.7	322	T ¹ + T ² + T ³ + T ⁴	1111



13.2 b) Kupplung der zweiten Aminosäure (65)

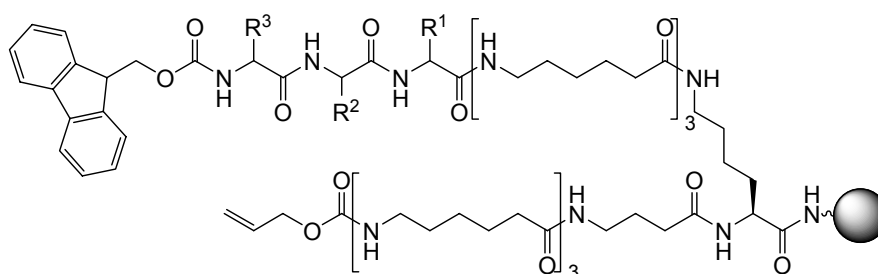
13.5 g (2.7 mmol) **64** wurden gemäss Protokoll B Fmoc entschützt und in 15 gleichgrosse Portionen (je 180 μ mol, 1.0 eq) aufgeteilt. Die tags wurden gekuppelt (Protokoll D) indem man 4 Lösungen (DMF) herstellte und jeweils 0.5 ml Lsg. verwendete; je Kolben 5 ml CH₂Cl₂, 330 μ l einer Lösung von 413 mg HOBt in 5 ml DMF, 330 μ l einer Lösung von 4.25 ml DIC in 4.25 ml CH₂Cl₂ für 12h. Anschliessend wurde die Intensität gemäss Protokoll D überprüft.

tag		Mw	Menge (in 5 ml)	Anteil tag
T ⁵	C ₁₁ -Cl ₃ (2,4,6)	590.9	21.3	2 mol%
T ⁶	C ₁₁ -Cl ₃ (2,4,5)	590.9	21.3	2 mol%
T ⁷	C ₁₂ -Cl ₃ (2,4,6)	604.9	21.8	2 mol%
T ⁸	C ₁₂ -Cl ₃ (2,4,5)	604.9	21.8	2 mol%

Die anschliessende Kupplung (Protokoll A) der Fmoc-Aminosäuren erfolgte zweimal. Pro Reaktion und Gefäss wurden 5 ml CH₂Cl₂, 300 μ l einer Lösung von 1.25 g (3.0 eq) HOBt in 5 ml DMF, die unten aufgeführte Menge Aminosäure (540 μ mol, 3 eq) und 85 μ l DIC verwendet. Nach 2 h wurden die Reaktionslösungen ausgewaschen und die Kupplungen wiederholt, anschliessend wurden die 15 Portionen vereinigt.

AS	Mw	mg AS	tags	tag-code
Fmoc-Gly-OH	297.3	161	T ⁸	0001
Fmoc-D-Ala-OH	311.3	168	T ⁷	0010
Fmoc-L-Val-OH	339.4	183	T ⁷ + T ⁸	0011
Fmoc-D-Leu-OH	353.4	191	T ⁶	0100
Fmoc-L-Pro-OH	337.4	182	T ⁶ + T ⁸	0101
Fmoc-D-Pro-OH	337.4	182	T ⁶ + T ⁷	0110

Fmoc-L-Phe-OH	387.4	209	T ⁶ + T ⁷ + T ⁸	0111
Fmoc-D-Tyr(^t Bu)-OH	459.6	248	T ⁵	1000
Fmoc-L-His(Trt)-OH	619.7	335	T ⁵ + T ⁸	1001
Fmoc-D-His(Trt)-OH	619.7	335	T ⁵ + T ⁷	1010
Fmoc-L-Asp(O ^t Bu)-OH	411.5	222	T ⁵ + T ⁷ + T ⁸	1011
Fmoc-D-Glu(O ^t Bu)-OH	425.5	230	T ⁵ + T ⁶	1100
Fmoc-L-Arg(Pmc)-OH	662.8	358	T ⁵ + T ⁶ + T ⁸	1101
Fmoc-D-Gln(Trt)-OH	610.7	330	T ⁵ + T ⁶ + T ⁷	1110
Fmoc-L-Asn(Trt)-OH	596.7	322	T ⁵ + T ⁶ + T ⁷ + T ⁸	1111



13.2 c) Kupplung der dritten Aminosäure (66)

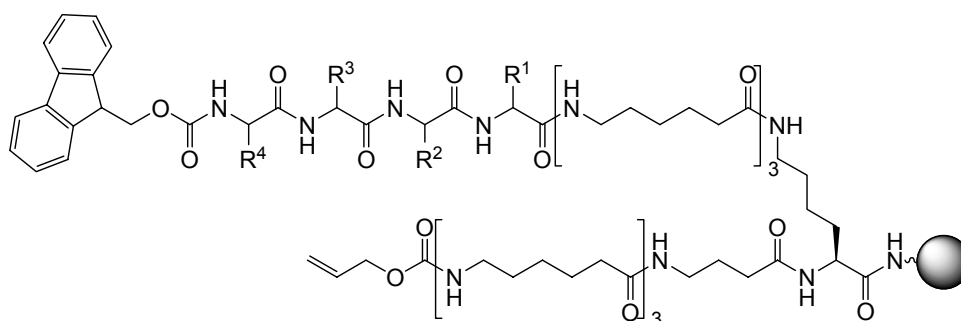
13.6 g (2.7 mmol) **65** wurden gemäss Protokoll B Fmoc entschützt und in 15 gleichgrosse Portionen (je 180 µmol, 1.0 eq) aufgeteilt. Die tags wurden gekuppelt (Protokoll D) indem man 4 Lösungen (DMF) herstellte und jeweils 0.5 ml Lsg. verwendete; je Kolben 5 ml CH₂Cl₂, 330 µl einer Lösung von 413 mg HOBt in 5 ml DMF, 330 µl einer Lösung von 4.25 ml DIC in 4.25 ml CH₂Cl₂ für 12h. Anschliessend wurde die Intensität gemäss Protokoll D überprüft.

tag		Mw	Menge (in 5 ml)	Anteil tag
T ⁹	C ₉ -Cl ₃ (2,4,6)	562.8	20.2	2 mol%
T ¹⁰	C ₉ -Cl ₃ (2,4,5)	562.8	20.2	2 mol%
T ¹¹	C ₁₀ -Cl ₃ (2,4,6)	576.9	20.7	2 mol%
T ¹²	C ₁₀ -Cl ₃ (2,4,5)	576.9	20.7	2 mol%

Die anschliessende Kupplung (Protokoll A) der Fmoc-Aminosäuren erfolgte zur Sicherheit zweimal hintereinander. Pro Reaktion und Gefäss wurden 5 ml CH₂Cl₂, 300 µl einer Lösung von 1.25 g (3.0 eq) HOBt in 5 ml DMF, die unten aufgeführte

Menge Fmoc-Aminosäure (540 μmol , 3 eq) und 85 μl DIC verwendet. Nach 2 h wurden die Reaktionslösungen ausgewaschen und die Kupplungen wiederholt, anschliessend wurden die 15 Portionen vereinigt.

AS	Mw	mg AS	tags	tag-code
Fmoc-Gly-OH	297.3	161	T^{12}	0001
Fmoc-L-Ala-OH	311.3	168	T^{11}	0010
Fmoc-D-Val-OH	339.4	183	$T^{11} + T^{12}$	0011
Fmoc-L-Leu-OH	353.4	191	T^{10}	0100
Fmoc-D-Pro-OH	337.4	182	$T^{10} + T^{12}$	0101
Fmoc-L-Pro-OH	337.4	182	$T^{10} + T^{11}$	0110
Fmoc-D-Phe-OH	387.4	209	$T^{10} + T^{11} + T^{12}$	0111
Fmoc-L-Tyr($t\text{Bu}$)-OH	459.6	248	T^9	1000
Fmoc-D-His(Trt)-OH	619.7	335	$T^9 + T^{12}$	1001
Fmoc-L-His(Trt)-OH	619.7	335	$T^9 + T^{11}$	1010
Fmoc-D-Asp(O $t\text{Bu}$)-OH	411.5	222	$T^9 + T^{11} + T^{12}$	1011
Fmoc-L-Glu(O $t\text{Bu}$)-OH	425.5	230	$T^9 + T^{10}$	1100
Fmoc-D-Arg(Pmc)-OH	662.8	358	$T^9 + T^{10} + T^{12}$	1101
Fmoc-L-Gln(Trt)-OH	610.7	330	$T^9 + T^{10} + T^{11}$	1110
Fmoc-D-Asn(Trt)-OH	596.7	322	$T^9 + T^{10} + T^{11} + T^{12}$	1111



13.2 d) Kupplung der vierten Aminosäure (67)

12.0 g (~2.7 mmol) **65** wurden gemäss Protokoll B Fmoc entschützt und in 15 gleichgrosse Portionen (je 180 μmol , 1.0 eq) aufgeteilt. Die tags wurden gekuppelt (Protokoll D) indem man 4 Lösungen (DMF) herstellte und jeweils 0.5 ml Lsg. verwendete; je Kolben 5 ml CH_2Cl_2 , 330 μl einer Lösung von 413 mg HOBt in 5 ml

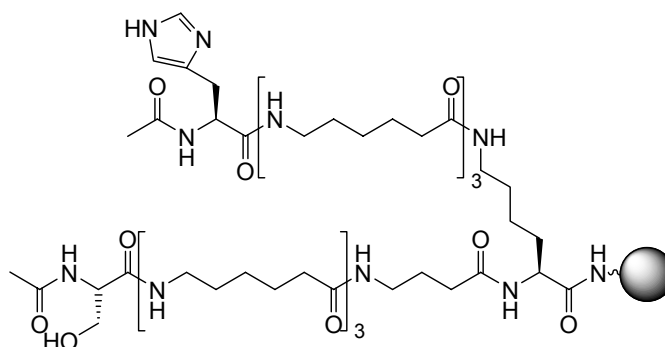
DMF, 330 µl einer Lösung von 4.25 ml DIC in 4.25 ml CH₂Cl₂ für 12h. Anschliessend wurde die Intensität gemäss Protokoll D überprüft.

tag		Mw	Menge (mg)	Anteil tag
T ¹³	C ₇ -Cl ₃ (2,4,6)	534.8	19.3	2 mol%
T ¹⁴	C ₇ -Cl ₃ (2,4,5)	534.8	19.3	2 mol%
T ¹⁵	C ₈ -Cl ₃ (2,4,6)	548.8	19.8	2 mol%
T ¹⁶	C ₈ -Cl ₃ (2,4,5)	548.8	19.8	2 mol%

Die anschliessende Kupplung (Protokoll A) der Fmoc-Aminosäuren erfolgte zur Sicherheit zweimal hintereinander. Pro Reaktion und Gefäss wurden 5 ml CH₂Cl₂, 300 µl einer Lösung von 1.25 g (3.0 eq) HOBt in 5 ml DMF, die unten aufgeführte Menge Fmoc-Aminosäure (540 µmol, 3 eq) und 85 µl DIC verwendet. Nach 2 h wurden die Reaktionslösungen ausgewaschen und die Kupplungen wiederholt, anschliessend wurden die 15 Portionen vereinigt.

AS	Mw	mg AS	tags	tag-code
Fmoc-Gly-OH	297.3	161	T ¹⁶	0001
Fmoc-D-Ala-OH	311.3	168	T ¹⁵	0010
Fmoc-L-Val-OH	339.4	183	T ¹⁵ + T ¹⁶	0011
Fmoc-D-Leu-OH	353.4	191	T ¹⁴	0100
Fmoc-L-Pro-OH	337.4	182	T ¹⁴ + T ¹⁶	0101
Fmoc-D-Pro-OH	337.4	182	T ¹⁴ + T ¹⁵	0110
Fmoc-L-Phe-OH	387.4	209	T ¹⁴ + T ¹⁵ + T ¹⁶	0111
Fmoc-D-Tyr(^t Bu)-OH	459.6	248	T ¹³	1000
Fmoc-L-His(Trt)-OH	619.7	335	T ¹³ + T ¹⁶	1001
Fmoc-D-His(Trt)-OH	619.7	335	T ¹³ + T ¹⁵	1010
Fmoc-L-Asp(O ^t Bu)-OH	411.5	222	T ¹³ + T ¹⁵ + T ¹⁶	1011
Fmoc-D-Glu(O ^t Bu)-OH	425.5	230	T ¹³ + T ¹⁴	1100
Fmoc-L-Arg(Pmc)-OH	662.8	358	T ¹³ + T ¹⁴ + T ¹⁶	1101
Fmoc-D-Gln(Trt)-OH	610.7	330	T ¹³ + T ¹⁴ + T ¹⁵	1110
Fmoc-L-Asn(Trt)-OH	596.7	322	T ¹³ + T ¹⁴ + T ¹⁵ + T ¹⁶	1111

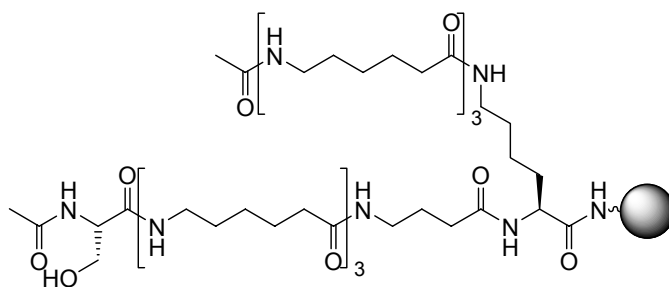
13.3 Funktionalisierung der Linker und Bibliotheken



13.3 a) Positiv-Kontroll-Harz 7

100 mg (27 μmol , 1.0 eq) **3** wurden gemäss Protokoll B Fmoc-entschützt, jeweils 3 ml Piperidin/DMF (1:4) und anschliessend wurde das freie Amin mit Fmoc-L-His(Trt)-OH funktionalisiert (Protokoll A): 50 mg (81 μmol , 3.0 eq) Fmoc-L-His(Trt)-OH, 12 mg (81 μmol , 3.0 eq) HOBt, 10 μl (81 μmol , 3.0 eq) DIC in 1.5 ml CH_2Cl_2 für 1.5 h. Nach einer weiteren Fmoc-Entschätzung (Protokoll B), jeweils 3 ml Piperidin/DMF (1:4), wurde das freie Amin acetyliert, 3 ml CH_2Cl_2 , 600 μl (4.2 mmol, 155 eq) Et_3N , und 300 μl (3.0 mmol, 110 eq) Ac_2O während 1 h. Für den Reaktionsarm wurde gemäss Protokoll E Alloc entschützt; 1.5 ml CH_2Cl_2 , 15 μl (180 μmol , 7 eq) Pyrrolidin, 1.5 mg (1.2 μmol , 4 mol%) $\text{Pd}(\text{PPh}_3)_4$, 2 h. Nach dem Waschen mit viermal je 3 ml CH_2Cl_2 wurde das freie Amin mit Fmoc-L-Ser(t Bu)-OH funktionalisiert (Protokoll A); 1.5 ml CH_2Cl_2 , 27 mg (69 μmol , 2.6 eq) Fmoc-L-Ser(t Bu)-OH, 42 mg (312 μmol , 12 eq) HOBt, 33 μl (12 μmol , 19 eq) DIC, 1.5 h. Die Fmoc-Gruppe wurde entschützt (Protokoll B), jeweils 3 ml Piperidin/DMF (1:4) und anschliessend wurde das freie Amin mit 3 ml CH_2Cl_2 , 600 μl (4.2 mmol, 155 eq) Et_3N , und 300 μl (3.0 mmol, 110 eq) Ac_2O während 1 h acetyliert.

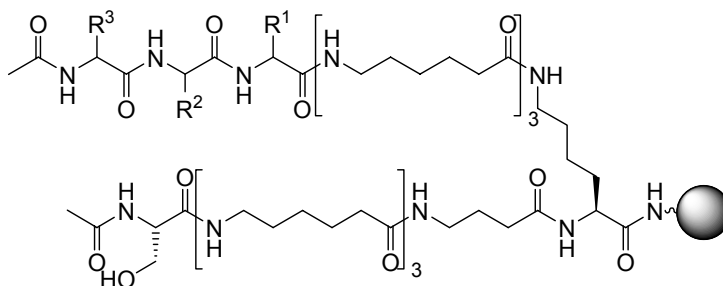
Nach dem Waschen, dreimal 3 ml CH_2Cl_2 , wurden alle Seitenketten gemäss Protokoll F entschützt; dreimal je 3 ml TFA / Phenol / Thioanisol / Wasser / Triisopropylsilan (84% / 5% / 5% / 5% / 1%), waschen: dreimal 3 ml CH_2Cl_2 , dreimal 3 ml CH_2Cl_2 / 10% Et_3N und fünfmal 3 ml CH_2Cl_2 .



13.3 b) Negativ-Kontroll-Harz 8

100 mg (27 μ mol, 1.0 eq) **3** wurden gemäss Protokoll B Fmoc-entschützt, jeweils 3 ml Piperidin/DMF (1:4), anschliessend wurde das freie Amin mit 3 ml CH_2Cl_2 , 600 μ l (4.2 mmol, 155 eq) Et_3N , und 300 μ l (3.0 mmol, 110 eq) Ac_2O während 1 h acetyliert. Für den Reaktionsarm wurde gemäss Protokoll E Alloc entschützt; 1.5 ml CH_2Cl_2 , 15 μ l (180 μ mol, 7 eq) Pyrrolidin, 1.5 mg (1.2 μ mol, 4 mol%) $\text{Pd}(\text{PPh}_3)_4$, 2 h. Nach dem Waschen mit viermal je 3 ml CH_2Cl_2 wurde das freie Amin mit Fmoc-L-Ser(^tBu)-OH funktionalisiert (Protokoll A); 1.5 ml CH_2Cl_2 , 27 mg (69 μ mol, 2.6 eq) Fmoc-L-Ser(^tBu)-OH, 42 mg (312 μ mol, 12 eq) HOBt, 33 μ l (12 μ mol, 19 eq) DIC, 1.5 h. Die Fmoc-Gruppe wurde entschützt (Protokoll B), jeweils 3 ml Piperidin/DMF (1:4) und anschliessend wurde das freie Amin mit 3 ml CH_2Cl_2 , 600 μ l (4.2 mmol, 155 eq) Et_3N , und 300 μ l (3.0 mmol, 110 eq) Ac_2O während 1 h acetyliert.

Nach dem Waschen, dreimal 3 ml CH_2Cl_2 , wurden alle Seitenketten gemäss Protokoll F entschützt; dreimal je 3 ml TFA / Phenol / Thioanisol / Wasser / Triisopropylsilan (84% / 5% / 5% / 5% / 1%), waschen: dreimal 3 ml CH_2Cl_2 , dreimal 3 ml CH_2Cl_2 / 10% Et_3N und fünfmal 3 ml CH_2Cl_2 .

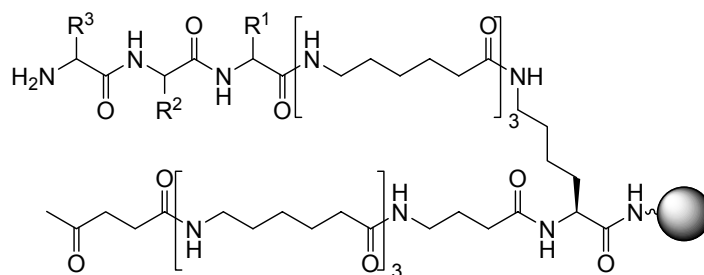


13.3 c) Serinfunktionalisierte Tripeptidbibliothek 9

60 mg (16 μ mol, 1.0 eq) **65** wurden gemäss Protokoll B Fmoc-entschützt, jeweils 3 ml Piperidin/DMF (1:4) und anschliessend wurde das freie Amin mit 3 ml CH_2Cl_2 , 600 μ l (4.2 mmol, 265 eq) Et_3N , und 300 μ l (3.0 mmol, 185 eq) Ac_2O während 1 h acetyliert. Für den Reaktionsarm wurde gemäss Protokoll E Alloc entschützt; 1.5 ml

CH₂Cl₂, 15 µl (180 µmol, 11 eq) Pyrrolidin, 1.5 mg (1.2 µmol, 8 mol%) Pd(PPh₃)₄, 2 h. Nach dem Waschen mit viermal je 3 ml CH₂Cl₂ wurde das freie Amin mit Fmoc-L-Ser(^tBu)-OH funktionalisiert (Protokoll A); 1.5 ml CH₂Cl₂, 27 mg (69 µmol, 4 eq) Fmoc-L-Ser(^tBu)-OH, 42 mg (312 µmol, 19 eq) HOBt, 33 µl (312 µmol, 19 eq) DIC, 2h. Die Fmoc-Gruppe wurde entschützt (Protokoll B), jeweils 3 ml Piperidin/DMF (1:4) und anschliessend wurde das freie Amin mit 3 ml CH₂Cl₂, 600 µl (4.2 mmol, 265 eq) Et₃N, und 300 µl (3.0 mmol, 185 eq) Ac₂O während 1 h acetyliert.

Nach dem Waschen, dreimal 3 ml CH₂Cl₂, wurden alle Seitenketten gemäss Protokoll F entschützt; dreimal je 3 ml TFA / Phenol / Thioanisol / Wasser / Triisopropylsilan (84% / 5% / 5% / 5% / 1%), waschen: dreimal 3 ml CH₂Cl₂, dreimal 3 ml CH₂Cl₂ / 10% Et₃N und fünfmal 3 ml CH₂Cl₂.

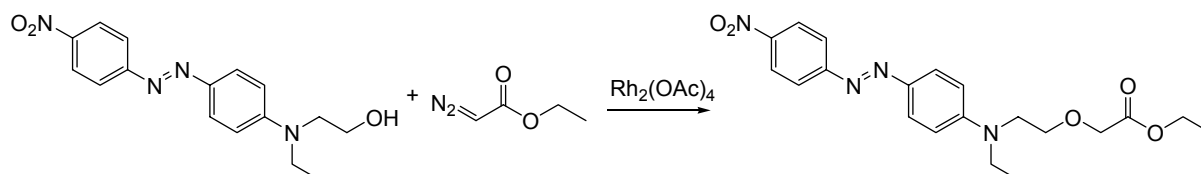


13.3 d) Ketonfunktionalisierte Tripeptidbibliothek 23

200 mg (54 µmol, 1.0 eq) **65** wurden Fmoc entschützt (Protokoll B) und in 5 ml CH₂Cl₂ mit 100 mg (458 µmol, 8.5 eq) Boc₂O geschützt. Nach 1 h wurde das Harz dreimal mit je 10 ml CH₂Cl₂ gewaschen und gemäss Protokoll E Alloc-entschützt; zweimal je 5 ml CH₂Cl₂, 50 µl (606 µmol, 11 eq) Pyrrolidin, 6.6 mg (5.4 µmol, 10 mol%) Pd(PPh₃)₄ für je 2 h. Das freie Amin wurde mit Laevulinsäure (4-Oxopentansäure) funktionalisiert (Protokoll A); 30 mg (258 µmol, 4.8 eq) Laevulinsäure, 30 mg (222 µmol, 4.1 eq) HOBt in 200 µl DMF, 250 µl (1.4 mmol, 25 eq) DIC, 2 h. Anschliessend wurde die Bibliothek gemäss Protokoll F entschützt, gewaschen und i.V. getrocknet; dreimal je 2.5 ml TFA in 5 ml CH₂Cl₂, waschen: dreimal 5 ml CH₂Cl₂, dreimal 5 ml CH₂Cl₂ / 10% Et₃N und fünfmal 5 ml CH₂Cl₂.

14. Synthese der farbstoffmarkierten Reaktionspartner B

14.1 Synthese des farbstoffmarkierten Aktivesters



14.1 a) Veretherung von Dispersrot (68)^[95]

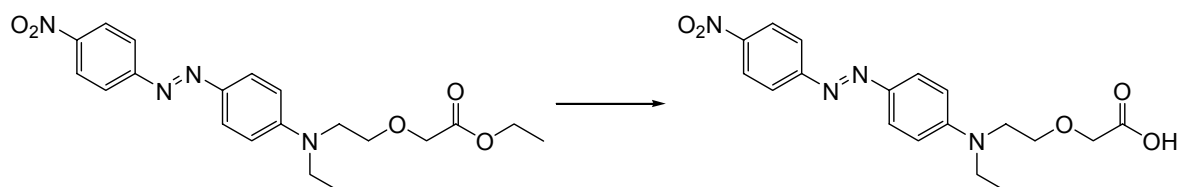
1.0 g (3.18 mmol, 1.0 eq) Dispers-Rot wurde in 50 ml CH_2Cl_2 /Toluol (1:1) gelöst, mit 25 mg (52.3 μmol , 1.5 mol%) $\text{Rh}_2(\text{OAc})_4$ versetzt und auf 40°C erhitzt. Zu dieser Lösung wurden 1.3 ml (12.5 mmol, 4.0 eq) Ethyldiazoacetat, gelöst in 20 ml Toluol über 1 h zugegeben. Nach 1 Tag wurden die Lösungsmittel am R.V. entfernt und der Rückstand zur Reinigung über Kieselgel gesäult, CH_2Cl_2 /0.5-1%MeOH. Nach Umkristallisation (15 ml CH_2Cl_2 /80 ml Pentan, 40°C) wurde 560 mg (1.40 mmol, 44%) roter Festkörper erhalten.

^1H NMR (400 MHz, CDCl_3 , 25°C): δ = 8.32 (ψd , J = 9.0 Hz, 2H; ar), 7.90 (m, 4H; ar), 6.78 (ψd , J = 9.3 Hz, 2H; ar), 4.22 (q, J = 7.1 Hz, 2H; OCH_2CH_3), 3.78 (t, J = 5.5 Hz, 2H; $\text{OCH}_2\text{CH}_2\text{N}$), 3.69 (t, J = 5.6 Hz, 2H; $\text{OCH}_2\text{CH}_2\text{N}$), 3.57 (q, J = 7.1 Hz, 2H; NCH_2CH_3), 1.28 (t, J = 7.1 Hz, 3H; OCH_2CH_3), 1.25 (t, J = 7.1 Hz, 3H; OCH_2CH_3).

^{13}C NMR (100.6 MHz, CDCl_3 , 25°C): δ = 170.5, 157.3, 151.8, 147.8, 144.1, 126.7, 125.1, 123.0, 111.8, 69.5, 69.1, 61.4, 50.6, 46.4, 14.6, 12.6.

MS (FAB): m/z (%): 401 (100%) $[\text{M}+\text{H}]^+$, 283 (93%) $[\text{M}-\text{CH}_2\text{OR}]^+$.

Elementaranalyse, berechnet (%): $\text{C}_{20}\text{H}_{24}\text{N}_4\text{O}_5$ (400.4): C 59.99, H 6.04, N 13.99, O 19.98; gefunden: C 59.78, H 5.86, N 14.13, O 19.86.



14.1 b) Verseifung zur Carbonsäure **69**

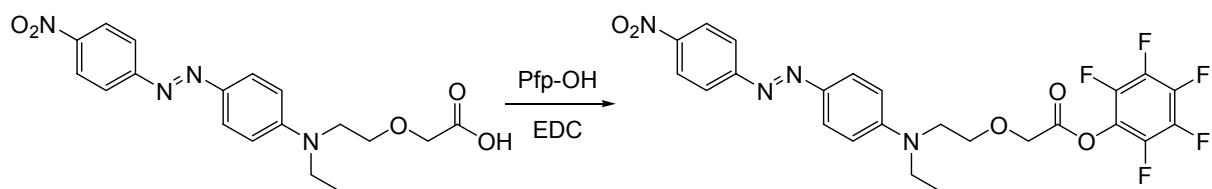
200 mg (500 μmol , 1.0 eq) **68** wurden in 30 ml MeOH und 7.5 ml Toluol gelöst, mit 140 mg (2.5 mmol, 5.0 eq) KOH versetzt und für 2 h zum Rückflussieren erhitzt. Anschliessend wurde mit viermal 100 ml CH_2Cl_2 gegen zweimal 50 ml 2M HCl und 50 ml ges. NaCl-Lsg. extrahiert. Die organischen Phasen wurden über Na_2SO_4 getrocknet und das Lösungsmittel am R.V. entfernt. Zur Reinigung wurde das Rohprodukt mit 7 ml CH_2Cl_2 und 35 ml Et_2O bei 40°C umkristallisiert.

Ausbeute: 165 mg (443.5 μmol , 88.7%) roter Festkörper.

^1H NMR (400 MHz, d_6 -DMSO, 25°C): δ = 12.62 (s, 1H; COOH), 8.35 (νd , J = 8.3Hz, 2H; ar), 7.93 (νd , J = 9.0Hz, 2H; ar), 7.83 (νd , J = 9.2Hz, 2H; ar), 6.90 (νd , J = 9.3Hz, 2H; ar), 3.68 (m, 4H; $\text{OCH}_2\text{CH}_2\text{N}$), 3.55 (q, J = 7.1 Hz, 2H; NCH_2CH_3), 1.17 (t, J = 7.0Hz, 3H; OCH_2CH_3).

^{13}C NMR (100.6 MHz, d_6 -DMSO, 25°C): δ = 172.4, 157.1, 152.6, 147.7, 143.6, 127.0, 125.8, 123.3, 112.5, 69.2, 68.6, 50.4, 46.1, 12.9.

MS (EI): m/z (%): 372.1 (6.66%) $[\text{M}]^+$, 283.1 (61.1%) $[\text{M}-\text{CH}_2\text{OR}]^+$, 138.0 (100%) $[\text{NO}_2-\text{C}_6\text{H}_4\text{NH}_2]^+$.



14.1 c) Herstellung des Aktivesters 6

50 mg (134.3 μmol , 1.0 eq) **69** wurden in 5 ml CH_2Cl_2 gelöst und mit 26 mg (141 μmol , 1.05 eq) Pentafluorophenol und 103 mg (537 μmol , 4.0 eq) EDC versetzt. Nach 6 h wurde das Lösungsmittel am R.V. entfernt und das Rohprodukt mittels Säulenchromatographie gereinigt (CH_2Cl_2 / 1% MeOH).

Ausbeute: 64.1 mg (119 μmol , 88.7%) roter Festkörper.

^1H NMR (400 MHz, CDCl_3 , 25°C): δ = 8.31 (ψd , J = 9.1 Hz, 2H; ar), 7.91 (ψd , J = 9.1 Hz, 2H; ar), 7.87 (ψd , J = 9.2 Hz, 2H; ar), 6.77 (ψd , J = 9.3 Hz, 2H; ar), 3.87 (t, J = 6.0 Hz, 2H; $\text{OCH}_2\text{CH}_2\text{N}$), 3.73 (t, J = 5.7 Hz, 2H; $\text{OCH}_2\text{CH}_2\text{N}$), 3.57 (q, J = 7.1 Hz, 2H; NCH_2CH_3), 1.26 (t, J = 7.1 Hz, 3H; OCH_2CH_3).

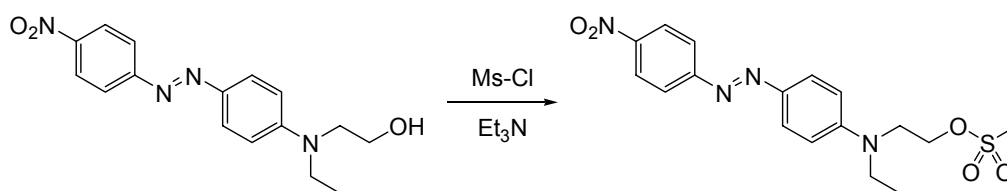
^{13}C NMR (100.6 MHz, CDCl_3 , 25°C): δ = 166.7, 157.2, 151.7, 147.8, 144.2, 126.6, 125.1, 123.0, 111.8, 70.0, 68.2, 50.5, 46.5, 12.6.

^{19}F NMR (376.5 MHz, CDCl_3 , 25°C): δ = -153.6, -158.2, -162.9.

MS (FAB): m/z (%): 538 (13.6%) $[\text{M}+\text{H}]^+$, 283 (100%) $[\text{M}-\text{CH}_2\text{OR}]^+$.

Elementaranalyse, berechnet (%): $\text{C}_{24}\text{H}_{19}\text{F}_5\text{N}_4\text{O}_5$ (538.4): C 53.54, H 3.56, N 10.41, O 14.86; gefunden: C 53.55, H 3.63, N 10.38, O 14.74.

14.2 Synthese des farbstoffmarkierten Aldehyds 24



14.2 a) Aktivierung von Dispersrot zum Mesylat 70

3.0 g Dispers-Rot 1 (9.54 mmol, 1.0 eq) wurden in 55 ml CH₂Cl₂ gelöst, und unter Eiskühlung mit 2.65 ml Et₃N (19.09 mmol, 2.0 eq) und 1.49 ml Mesylchlorid (19.09 mmol, 2.0 eq) versetzt. Man liess auf Raumtemperatur erwärmen und extrahierte mit CH₂Cl₂ gegen 0.5M wässrige HCl, die organischen Phasen wurden über Na₂SO₄ getrocknet und das Lösungsmittel am R.V. entfernt.

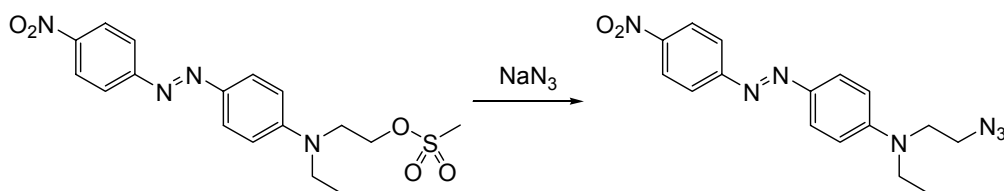
Ausbeute: 3.75g (quant.) dunkelroter Festkörper. Eine Analytische Probe von 100 mg wurde zur Reinigung über Kieselgel chromatographiert, (CH₂Cl₂/2% MeOH) der Rest ohne weitere Reinigung verwendet.

¹H NMR (400 MHz, CDCl₃, 25°C): δ = 8.32 (m, 2H; ar), 7.92 (m, 4H; ar), 6.79 (m, 2H; ar), 4.41 (t, J = 6.1 Hz, 2H; OCH₂CH₂N), 3.81 (t, J = 6.0 Hz, 2H; OCH₂CH₂N), 3.56 (q, J = 7.1 Hz, 2H; NCH₂CH₃), 3.00 (s, 3H; SO₂CH₃), 1.27 (t, J = 7.1 Hz, 3H; NCH₂CH₃).

¹³C NMR (100.6 MHz, CDCl₃, 25°C): δ = 157.0, 151.1, 148.0, 144.6, 126.6, 125.1, 123.1, 112.0, 66.4, 49.8, 46.4, 38.0, 12.7.

MS (EI): m/z (%): 392.2 (28.4) [M]⁺, 283.2 (100) [M-CH₂SO₃CH₃]⁺.

Elementaranalyse, berechnet (%): C₁₇H₂₀N₄O₅S (392.4): C 52.03, H 5.14, N 14.28, O 20.39; gefunden: C 52.05, H 5.10, N 14.28, O 20.28.



14.2 b) Nucleophile Substitution des Mesylats zum Azid 71^[92]

994 mg (15.3 mmol, 2.0 eq) NaN_3 wurden in 40 ml DMSO suspendiert und mit 3.0 g (7.64 mmol, 1.0 eq) Dispers-Rot-Mesylat **71** versetzt. Die Reaktion wurde für 3 h auf 80°C erhitzt und anschliessend mit zweimal 150 ml CH_2Cl_2 gegen viermal 500 ml Wasser extrahiert. Die organischen Phasen wurden mit 400 ml ges. NaCl-Lösung gewaschen, anschliessend über Na_2SO_4 getrocknet und am R.V. vom Lösungsmittel befreit. Zur Reinigung wurde über Kieselgel gesäult, Gradient: $\text{CH}_2\text{Cl}_2/0.1\text{-}0.2\%$ MeOH.

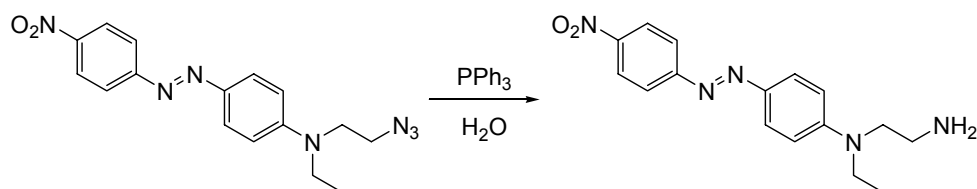
Ausbeute 2.29 g (88%) roter Festkörper, welcher mit EtOAc/Hexan zu violetten Nadeln umkristallisiert werden kann (1.1 g, 60 ml Hexan, 12 ml EtOAc, Rückfluss).

^1H NMR (400 MHz, CDCl_3 , 25°C): δ = 8.33 (m, 2H; ar), 7.92 (m, 4H; ar), 6.79 (m, 2H; ar), 3.59 (m, 6H; $\text{OCH}_2\text{CH}_2\text{N}$, $\text{OCH}_2\text{CH}_2\text{N}$, NCH_2CH_3), 1.27 (t, J = 7.4 Hz, 3H; NCH_2CH_3).

^{13}C NMR (100.6 MHz, CDCl_3 , 25°C): δ = 157.1, 151.2, 147.9, 126.7, 125.1, 123.1, 111.9, 50.0, 49.4, 46.3, 12.7.

MS (FAB): m/z (%): 340 (69.2%) $[\text{M}+\text{H}]^+$, 283 (100%) $[\text{M}-\text{CH}_2\text{N}_3]^+$.

Elementaranalyse, berechnet (%): $\text{C}_{16}\text{H}_{17}\text{N}_7\text{O}_2$ (339.4): C 56.63, H 5.05, N 28.89, O 9.43; gefunden: C 56.61, H 4.97, N 29.02, O 9.36.



14.2 c) Staudinger-Reduktion des Azids zum Amin **72**^[93]

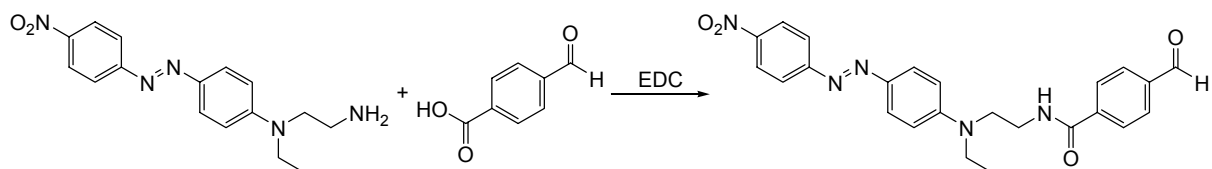
1.0 g (2.95 mmol, 1.0 eq) Dispers-Rot-Azid **71** wurde in 50 ml THF gelöst und mit 850 mg (3.24 mmol, 1.1 eq) PPh₃ versetzt. Nach 14 h wurden weitere 425 mg (1.62 mmol, 0.56 eq) PPh₃ zugegeben und die Reaktion weitere 10 h bei Raumtemperatur gerührt. Anschliessend wurden 106 µl (5.9 mmol, 2.0 eq) Wasser zugegeben und die Lösung für 14 h rückflusiert. Die Reaktionslösung wurde am R.V. vom Lösungsmittel befreit, mit 1M NaOH gegen CH₂Cl₂ extrahiert, über Na₂SO₄ getrocknet und das Lösungsmittel am R.V. entfernt. Zur Reinigung wurde über Kieselgel gesäult, CH₂Cl₂/5%MeOH/0.5% Et₃N.

Ausbeute 890 mg (96%) roter Festkörper.

¹H NMR (400 MHz, CDCl₃, 25°C): δ = 8.32 (m, 2H; ar), 7.90 (m, 4H; ar), 6.78 (m, 2H; ar), 3.54 (q, J = 7.1 Hz, 2H; NCH₂CH₃), 3.50 (t, J = 6.9 Hz, 2H; OCH₂CH₂N), 3.00 (t, J = 7.0 Hz, 2H; OCH₂CH₂N), 1.25 (t, J = 7.1 Hz, 3H; NCH₂CH₃).

¹³C NMR (100.6 MHz, CDCl₃, 25°C): δ = 157.3, 152.0, 147.7, 144.0, 126.7, 125.1, 123.0, 111.8, 53.9, 46.2, 40.3, 12.7.

MS (FAB): m/z (%): 314 (97.76%) [M+H]⁺, 283 (100%) [M-CH₂NH₂]⁺.



14.2 d) Knüpfung der Amidbindung zum Benzaldehyd 24

250 mg (798 μ mol, 1.0 eq) **72** wurden mit 240 mg (1.60 mmol, 2.0 eq) 4-Carboxybenzaldehyd versetzt und in 10 ml CH_2Cl_2 suspendiert. Nach der Zugabe von 457 mg (2.4 mmol, 3.0 eq) EDC wurde für 4 h bei Raumtemperatur gerührt und anschliessend mit dreimal 100 ml CH_2Cl_2 gegen zweimal 50 ml 0.5M Na-Phosphat Puffer (pH 5.5) und 50 ml ges. NaCl-Lsg. extrahiert. Die organischen Phasen wurden über Na_2SO_4 getrocknet und das Lösungsmittel am R.V. entfernt. Zur Reinigung wurde über Kieselgel gesäult, Gradient: CH_2Cl_2 /0.5%-2% MeOH.

Ausbeute 199.8 mg (56%) roter Festkörper.

^1H NMR (500 MHz, CDCl_3 , 25°C): δ = 10.06 (s, 1H; CHO), 8.29 (m, 2H; ar), 7.9 (m, 8H; ar), 6.85 (m, 2H; ar), 6.65 (t, J = 5.0 Hz, 1H; CONH), 3.74 (m, 4H; $\text{OCH}_2\text{CH}_2\text{N}$, $\text{OCH}_2\text{CH}_2\text{N}$), 3.56 (q, J = 7.1 Hz, 2H; NCH_2CH_3), 1.26 (t, J = 7.1 Hz, 3H; NCH_2CH_3).

^{13}C NMR (125.8 MHz, CDCl_3 , 25°C): δ = 191.4, 166.9, 156.6, 151.3, 147.3, 143.8, 139.1, 138.3, 129.9, 127.6, 126.3, 124.7, 122.6, 111.4, 49.1, 45.8, 38.2, 12.3.

MS (FAB): m/z (%): 446 (71.59%) $[\text{M}+\text{H}]^+$, 283 (100%) $[\text{M}-\text{CH}_2\text{NHCOar}]^+$.

15. Synthese der Peptide

15.1 Peptide für die Acylierungsreaktionen

15.1 a) Ac-L-His-NHPr TFA (10)

100 mg (120 μmol , 1.0 eq) Wang-Harz (Batch: A27899) wurden in 4 ml CH_2Cl_2 suspendiert und mit 223 mg (360 μmol , 3.0 eq) Fmoc-L-His(Trt)-OH, 48.6 mg (360 μmol , 3.0 eq) HOBt gelöst in 0.4 ml DMF, 1-2 mg (~ 12 μmol , ~ 10 mol%) DMAP und 65 μl (360 μmol , 3.0 eq) DIC versetzt (Protokoll A). Nach 90 min wurde die Reaktionslösung mit dreimal je 5 ml CH_2Cl_2 ausgewaschen und die Kupplung wurde ein weiteres mal wiederholt. Fmoc wurde während 2min. und 10min. mit jeweils 4 ml DMF/Piperidin (4:1) entfernt, anschliessend wurde das Harz mit dreimal jeweils 5 ml DMF und 5 mal je 5 ml CH_2Cl_2 gewaschen (Protokoll B). Der freie N-Terminus wurde mit 1 ml (6.9 mmol, 58 eq) Et_3N und 0.5 ml (5.0 mmol, 42 eq) Ac_2O in 4 ml CH_2Cl_2 während 45 min. acetyliert. Die Abspaltung des Peptids zum Propylamid erfolgte mit 5 ml Propylamin / CH_2Cl_2 (1:1) während 5 Tagen. Die flüchtigen Komponenten wurden i.V. entfernt und das Peptid säulenchromatographisch aufgereinigt ($\text{CH}_2\text{Cl}_2/\text{MeOH}$). Die Seitenkettenschutz-gruppen wurden mit 5 ml CH_2Cl_2 / TFA (5:1) während 2 h entfernt, die flüchtigen Komponenten i.V. entfernt und das Peptid durch wiederholtes Ausfällen mit Et_2O aufgereinigt.

^1H NMR (500 MHz, CD_3OD , 25°C): δ = 8.77 (d, $J \approx 1$ Hz, 1H; His), 7.30 (s, 1H; His-NH), 4.66 (dd, J = 8.2 Hz, 6.1 Hz, 1H; His- H_α), 3.23 (dd, J = 15.2 Hz, 6.1 Hz, 1H; His- H_β), 3.14 (t, J = 7.1 Hz, 2H; $\text{NHCH}_2\text{CH}_2\text{CH}_3$), 3.02 (dd, J = 15.2 Hz, 8.2 Hz, 1H; His- H_β'), 1.96 (s, 3H; COCH_3), 1.50 (m, 2H; $\text{NHCH}_2\text{CH}_2\text{CH}_3$), 0.88 (t, J = 7.4 Hz, 3H; $\text{NHCH}_2\text{CH}_2\text{CH}_3$).

^{13}C NMR (125.6 MHz, CD_3OD , 25°C): δ = 173.3, 172.0, 135.0, 131.5, 118.3, 53.8, 42.3, 28.3, 23.5, 22.5, 11.6.

MS (ESI): m/z (%): 239.3 (100) $[M+\text{H}]^+$.

15.1 b) Ac-L-Pro-L-His-NHPr · TFA (11)

11 wurde für die ersten drei Schritte analog zu **10** auf 100 mg (120 μ mol, 1.0 eq) Wang-Harz (Batch: A27899) synthetisiert, anschliessend wurde das geschützte Peptid mit Propylamin vom Harz abgespalten, aufgereinigt und entschützt.

1. Schritt: Kupplung (Protokoll A, doppelte Kupplung) mit 4 ml CH_2Cl_2 , 223 mg (360 μ mol, 3.0 eq) Fmoc-L-His(Trt)-OH, 48.6 mg (360 μ mol, 3.0 eq) HOBt gelöst in 0.4 ml DMF, 1-2 mg (~ 12 μ mol, ~ 10 mol%) DMAP und 65 μ l (360 μ mol, 3.0 eq) DIC für 90 min. Fmoc-Entschützung (Protokoll B) mit zweimal 4 ml DMF/Piperidin (4:1).

2. Schritt: Kupplung (Protokoll A) mit 4 ml CH_2Cl_2 , 121 mg (360 μ mol, 3.0 eq) Fmoc-L-Pro-OH, 48.6 mg (360 μ mol, 3.0 eq) HOBt gelöst in 0.4 ml DMF und 65 μ l (360 μ mol, 3.0 eq) DIC für 90 min. Fmoc-Entschützung (Protokoll B) mit zweimal 4 ml DMF/Piperidin (4:1).

3. Schritt: Acetylierung mit 1 ml (6.9 mmol, 58 eq) Et_3N und 0.5 ml (5.0 mmol, 42 eq) Ac_2O für 45 min.

4. Schritt (Abspaltung): Das Harz wurde mit 5 ml einer Lösung von Propylamin / CH_2Cl_2 (1:1) für 5 Tage gerührt und anschliessend abfiltriert. Die Lösung wurde mit 10 ml CH_2Cl_2 verdünnt und mit zweimal 10 ml 0.1M Na-Phosphatpuffer (pH 5.5) und 10 ml ges. NaCl-Lsg extrahiert. Die wässrigen Phasen wurden zweimal mit je 25 ml CH_2Cl_2 rückextrahiert, die org. Phasen über Na_2SO_4 getrocknet und das Lösungsmittel am R.V. entfernt. Der Rückstand wurde dreimal in der minimal nötigen Menge CH_2Cl_2 gelöst und mit Et_2O / Pentan (1:1) ausgefällt.

5. Schritt (Entschützung): Das Peptid wurde mit 5 ml CH_2Cl_2 / TFA (5:1) versetzt und für 2 h gerührt. Anschliessend wurden die flüchtigen Komponenten i.V. entfernt und der Rückstand fünfmal in der minimal nötigen Menge MeOH gelöst und mit Et_2O ausgefällt und gewaschen.

^1H NMR (500 MHz, CD_3OD , 25°C): δ = 8.78 (s, 1H; His), 7.98 (s, 1H; His), 4.67 (dd, J = 8.2 Hz, 5.0 Hz, 1H; His- H_α), 4.34 (dd, J = 8.5 Hz, 5.1 Hz, 1H; Pro- H_α), 3.64 (m, 2H; Pro- H_δ , Pro- H_δ'), 3.32 (m, 1H; His- H_β), 3.16 (t, J = 7.2 Hz, 2H; $\text{NHCH}_2\text{CH}_2\text{CH}_3$), 3.10 (dd, J = 15.8 Hz, 8.2 Hz, 1H; His- H_β'), 2.21 (m, 1H; Pro- H_β), 2.11 (s, 3H; COCH_3), 1.98 (m, 2H; Pro- H_β' , Pro- H_γ), 1.88 (m, 1H; Pro- H_γ'), 1.53 (m, 2H; $\text{NHCH}_2\text{CH}_2\text{CH}_3$), 0.91 (t, J = 7.4 Hz, 3H; $\text{NHCH}_2\text{CH}_2\text{CH}_3$).

^{13}C NMR (125.6 MHz, CD_3OD , 25°C): δ = 173.4, 171.2, 170.1, 133.5, 129.8, 117.0, 60.2, 52.1, 48.2, 41.0, 29.6, 26.3, 24.4, 22.1, 21.0, 10.2.

MS (ESI): m/z (%): 336.3 (100) $[M+\text{H}]^+$.

15.1 c) Ac-L-His-L-His-NHPr · 2 TFA (12)

12 wurde analog zu **10** auf 100 mg (120 μmol , 1.0 eq) Wang-Harz synthetisiert.

1. Schritt: Kupplung (Protokoll A, doppelte Kupplung) mit 4 ml CH_2Cl_2 , 223 mg (360 μmol , 3.0 eq) Fmoc-L-His(Trt)-OH, 48.6 mg (360 μmol , 3.0 eq) HOBt gelöst in 0.4 ml DMF, 1-2 mg (~ 12 μmol , ~ 10 mol%) DMAP und 65 μl (360 μmol , 3.0 eq) DIC für 90 min. Fmoc-Entschützung (Protokoll B) mit zweimal 4 ml DMF/Piperidin (4:1).

2. Schritt: Kupplung (Protokoll A) mit 4 ml CH_2Cl_2 , 223 mg (360 μmol , 3.0 eq) Fmoc-L-His(Trt)-OH, 48.6 mg (360 μmol , 3.0 eq) HOBt gelöst in 0.4 ml DMF und 65 μl (360 μmol , 3.0 eq) DIC für 90 min. Fmoc-Entschützung (Protokoll B) mit zweimal 4 ml DMF/Piperidin (4:1).

3. Schritt: Acetylierung mit 1 ml (6.9 mmol, 58 eq) Et_3N und 0.5 ml (5.0 mmol, 42 eq) Ac_2O für 45 min.

4. Schritt: Abspaltung mit 5 ml Propylamin / CH_2Cl_2 (1:1), 5 Tage.

5. Schritt: Entschützung mit 5 ml CH_2Cl_2 / TFA (5:1) 2 h.

^1H NMR (500 MHz, CD_3OD , 25°C): δ = 8.78 (2d, J = 1.6 Hz, 2H; His), 7.33 (d, J = 1.1 Hz, 1H; His), 7.31 (d, J = 1.1 Hz, 1H; His), 4.62 (m, 2H; His- H_α), 3.26 – 3.05 (m, 6H; His- H_β , His- H_β' , $\text{NHCH}_2\text{CH}_2\text{CH}_3$), 1.95 (s, 3H; COCH_3), 1.50 (m, 2H; $\text{NHCH}_2\text{CH}_2\text{CH}_3$), 0.89 (t, J = 7.5 Hz, 3H; $\text{NHCH}_2\text{CH}_2\text{CH}_3$).

^{13}C NMR (125.6 MHz, CD_3OD , 25°C): δ = 173.5, 172.3, 171.8, 135.1, 135.0, 131.0, 131.0, 118.5, 118.4, 53.9, 53.8, 42.4, 28.2, 27.8, 23.5, 22.4, 11.7.

MS (ESI): m/z (%): 438.3 (100) $[M+\text{Cu}]^+$.

15.1 d) Ac-L-His-D-His-NHPr · 2 TFA (13)

13 wurde analog zu **10** auf 100 mg (120 μ mol, 1.0 eq) Wang-Harz synthetisiert.

1. Schritt: Kupplung (Protokoll A, doppelte Kupplung) mit 4 ml CH_2Cl_2 , 223 mg (360 μ mol, 3.0 eq) Fmoc-L-His(Trt)-OH, 48.6 mg (360 μ mol, 3.0 eq) HOBt gelöst in 0.4 ml DMF, 1-2 mg (~ 12 μ mol, ~ 10 mol%) DMAP und 65 μ l (360 μ mol, 3.0 eq) DIC für 90 min. Fmoc-Entschützung (Protokoll B) mit zweimal 4 ml DMF/Piperidin (4:1).
2. Schritt: Kupplung (Protokoll A) mit 4 ml CH_2Cl_2 , 223 mg (360 μ mol, 3.0 eq) Fmoc-D-His(Trt)-OH, 48.6 mg (360 μ mol, 3.0 eq) HOBt gelöst in 0.4 ml DMF und 65 μ l (360 μ mol, 3.0 eq) DIC für 90 min. Fmoc-Entschützung (Protokoll B) mit zweimal 4 ml DMF/Piperidin (4:1).
3. Schritt: Acetylierung mit 1 ml (6.9 mmol, 58 eq) Et_3N und 0.5 ml (5.0 mmol, 42 eq) Ac_2O für 45 min.
4. Schritt: Abspaltung mit 5 ml Propylamin / CH_2Cl_2 (1:1), 5 Tage.
5. Schritt: Entschützung mit 5 ml CH_2Cl_2 / TFA (5:1) 2 h.

^1H NMR (500 MHz, CD_3OD , 25°C): δ = 8.76 (m, 2H; His), 7.29 (m, 2H; His), 4.65 (dd, J = 5.6 Hz, 8.7 Hz 1H; His- H_α), 4.56 (dd, J = 5.6 Hz, 8.7 Hz 1H; His- H_α), 3.29-3.02 (m, 6H; His- H_β , $\text{NHCH}_2\text{CH}_2\text{CH}_3$), 2.96 (s, 3H; COCH_3), 1.51 (m, 2H; $\text{NHCH}_2\text{CH}_2\text{CH}_3$), 0.89 (t, J = 7.5 Hz, 3H; $\text{NHCH}_2\text{CH}_2\text{CH}_3$).

^{13}C NMR (125.6 MHz, CD_3OD , 25°C): δ = 173.8, 172.5, 171.8, 135.1, 135.1, 131.4, 131.3, 118.4, 118.3, 54.1, 53.9, 42.4, 28.0, 27.6, 23.5, 22.5, 11.6.

MS (ESI): m/z (%): 374.5 (100) $[\text{M}-\text{H}]^-$, 376.4 (27) $[\text{M}+\text{H}]^+$, 438.3 (100) $[\text{M}+\text{Cu}]^+$.

15.1 e) Ac-L-Pro-L-His-L-His-NHPr · 2 TFA (14)

14 wurde analog zu **10** auf 100 mg (120 μ mol, 1.0 eq) Wang-Harz synthetisiert.

1. Schritt: Kupplung (Protokoll A, doppelte Kupplung) mit 4 ml CH_2Cl_2 , 223 mg (360 μ mol, 3.0 eq) Fmoc-L-His(Trt)-OH, 48.6 mg (360 μ mol, 3.0 eq) HOBt gelöst in 0.4 ml DMF, 1-2 mg (~ 12 μ mol, ~ 10 mol%) DMAP und 65 μ l (360 μ mol, 3.0 eq) DIC für 90 min. Fmoc-Entschützung (Protokoll B) mit zweimal 4 ml DMF/Piperidin (4:1).
2. Schritt: Kupplung (Protokoll A) mit 4 ml CH_2Cl_2 , 223 mg (360 μ mol, 3.0 eq) Fmoc-L-His(Trt)-OH, 48.6 mg (360 μ mol, 3.0 eq) HOBt gelöst in 0.4 ml DMF und 65 μ l (360 μ mol, 3.0 eq) DIC für 90 min. Fmoc-Entschützung (Protokoll B) mit zweimal 4 ml DMF/Piperidin (4:1).
3. Schritt: Kupplung (Protokoll A) mit 4 ml CH_2Cl_2 , 121 mg (360 μ mol, 3.0 eq) Fmoc-L-Pro-OH, 48.6 mg (360 μ mol, 3.0 eq) HOBt gelöst in 0.4 ml DMF und 65 μ l (360 μ mol, 3.0 eq) DIC für 90 min. Fmoc-Entschützung (Protokoll B) mit zweimal 4 ml DMF/Piperidin (4:1).
4. Schritt: Acetylierung mit 1 ml (6.9 mmol, 58 eq) Et_3N und 0.5 ml (5.0 mmol, 42 eq) Ac_2O für 45 min.
5. Schritt: Abspaltung mit 5 ml Propylamin / CH_2Cl_2 (1:1), 5 Tage.
6. Schritt: Entschützung mit 5 ml CH_2Cl_2 / TFA (5:1) 2 h.

^1H NMR (500 MHz, CD_3OD , 25°C): δ = 8.75 (d, J = 1.3 Hz, 1H; His), 8.74 (d, J = 1.4 Hz, 1H; His), 7.32 (d, J = 1.3 Hz, 1H; His), 7.31 (d, J = 1.3 Hz, 1H; His), 4.60 (dd, J = 8.3 Hz, 5.0 Hz, 1H; His- $\text{H}\alpha$), 4.58 (dd, J = 8.7 Hz, 5.5 Hz, 1H; His- $\text{H}\alpha$), 4.29 (dd, J = 8.4 Hz, 5.2 Hz, 1H; Pro- $\text{H}\alpha$), 3.58 (m, 2H; Pro- $\text{H}\delta$, Pro- $\text{H}\delta'$), 3.25 (m, 2H; His- $\text{H}\beta$), 3.13 (m, 4H; His- $\text{H}\beta'$, $\text{NHCH}_2\text{CH}_2\text{CH}_3$), 2.16 (m, 1H; Pro- $\text{H}\beta$), 2.06 (s, 3H; COCH_3), 1.93 (m, 1H; Pro- $\text{H}\gamma$, Pro- $\text{H}\gamma'$), 1.83 (m, 1H; Pro- $\text{H}\beta'$), 1.47 (m, 2H; $\text{NHCH}_2\text{CH}_2\text{CH}_3$), 0.86 (t, J = 7.4 Hz, 3H; $\text{NHCH}_2\text{CH}_2\text{CH}_3$).

^{13}C NMR (125.6 MHz, CD_3OD , 25°C): δ = 175.1, 172.7, 171.9, 171.8, 135.0, 135.0, 131.2, 131.1, 118.6, 118.4, 61.6, 53.9, 53.8, 49.7, 42.4, 31.0, 28.1, 27.3, 25.9, 23.5, 22.4, 11.7.

MS (ESI): m/z (%): 535.4 (100) $[M+\text{Cu}]^+$.

15.1 f) Ac-L-His-L-His-L-His-NHPr · 3 TFA (15)

15 wurde analog zu **10** auf 100 mg (120 μ mol, 1.0 eq) Wang-Harz synthetisiert.

1. Schritt: Kupplung (Protokoll A, doppelte Kupplung) mit 4 ml CH_2Cl_2 , 223 mg (360 μ mol, 3.0 eq) Fmoc-L-His(Trt)-OH, 48.6 mg (360 μ mol, 3.0 eq) HOBt gelöst in 0.4 ml DMF, 1-2 mg (~ 12 μ mol, ~ 10 mol%) DMAP und 65 μ l (360 μ mol, 3.0 eq) DIC für 90 min. Fmoc-Entschützung (Protokoll B) mit zweimal 4 ml DMF/Piperidin (4:1).
2. Schritt: Kupplung (Protokoll A) mit 4 ml CH_2Cl_2 , 223 mg (360 μ mol, 3.0 eq) Fmoc-L-His(Trt)-OH, 48.6 mg (360 μ mol, 3.0 eq) HOBt gelöst in 0.4 ml DMF und 65 μ l (360 μ mol, 3.0 eq) DIC für 90 min. Fmoc-Entschützung (Protokoll B) mit zweimal 4 ml DMF/Piperidin (4:1).
3. Schritt: Kupplung (Protokoll A) mit 4 ml CH_2Cl_2 , 223 mg (360 μ mol, 3.0 eq) Fmoc-L-His(Trt)-OH, 48.6 mg (360 μ mol, 3.0 eq) HOBt gelöst in 0.4 ml DMF und 65 μ l (360 μ mol, 3.0 eq) DIC für 90 min. Fmoc-Entschützung (Protokoll B) mit zweimal 4 ml DMF/Piperidin (4:1).
4. Schritt: Acetylierung mit 1 ml (6.9 mmol, 58 eq) Et_3N und 0.5 ml (5.0 mmol, 42 eq) Ac_2O für 45 min.
5. Schritt: Abspaltung mit 5 ml Propylamin / CH_2Cl_2 (1:1), 5 Tage.
6. Schritt: Entschützung mit 5 ml CH_2Cl_2 / TFA (5:1) 2 h.

^1H NMR (500 MHz, d_6 -DMSO, 25°C): δ = 8.96 (m, 3H; His), 8.39 (d, J = 7.7 Hz, 1H; His-NH), 8.35 (d, J = 7.5 Hz, 1H; His-NH), 8.26 (d, J = 7.9 Hz, 1H; His-NH), 8.06 (t, J = 5.7 Hz, 1H; $\text{NHCH}_2\text{CH}_2\text{CH}_3$), 7.35 (d, J = 1.0 Hz, 1H; His), 7.31 (d, J = 0.6 Hz, 2H; His), 4.58-4.48 (m, 3H; His- H_α), 3.14-2.83 (m, 8H; His- H_β , $\text{NHCH}_2\text{CH}_2\text{CH}_3$), 1.82 (s, 3H; COCH_3), 1.36 (m, 2H; $\text{NHCH}_2\text{CH}_2\text{CH}_3$), 0.79 (t, J = 7.5 Hz, 3H; $\text{NHCH}_2\text{CH}_2\text{CH}_3$).

^{13}C NMR (125.6 MHz, d_6 -DMSO, 25°C): δ = 170.5, 169.9, 169.8, 169.5, 133.8, 129.6, 129.2, 116.8, 116.7, 52.1, 51.9, 51.8, 40.5, 27.0, 26.6, 26.5, 22.5, 22.1, 11.3.

MS (ESI): m/z (%): 513.3 (100) $[\text{M}+\text{H}]^+$.

15.1 g) Ac-L-Leu-L-His-L-His-NHPr · 2 TFA (16)

16 wurde analog zu **10** auf 100 mg (120 μ mol, 1.0 eq) Wang-Harz synthetisiert.

1. Schritt: Kupplung (Protokoll A, doppelte Kupplung) mit 4 ml CH_2Cl_2 , 223 mg (360 μ mol, 3.0 eq) Fmoc-L-His(Trt)-OH, 48.6 mg (360 μ mol, 3.0 eq) HOBt gelöst in 0.4 ml DMF, 1-2 mg (~ 12 μ mol, ~ 10 mol%) DMAP und 65 μ l (360 μ mol, 3.0 eq) DIC für 90 min. Fmoc-Entschützung (Protokoll B) mit zweimal 4 ml DMF/Piperidin (4:1).
2. Schritt: Kupplung (Protokoll A) mit 4 ml CH_2Cl_2 , 223 mg (360 μ mol, 3.0 eq) Fmoc-L-His(Trt)-OH, 48.6 mg (360 μ mol, 3.0 eq) HOBt gelöst in 0.4 ml DMF und 65 μ l (360 μ mol, 3.0 eq) DIC für 90 min. Fmoc-Entschützung (Protokoll B) mit zweimal 4 ml DMF/Piperidin (4:1).
3. Schritt: Kupplung (Protokoll A) mit 4 ml CH_2Cl_2 , 127 mg (360 μ mol, 3.0 eq) Fmoc-L-Leu-OH, 48.6 mg (360 μ mol, 3.0 eq) HOBt gelöst in 0.4 ml DMF und 65 μ l (360 μ mol, 3.0 eq) DIC für 90 min. Fmoc-Entschützung (Protokoll B) mit zweimal 4 ml DMF/Piperidin (4:1).
4. Schritt: Acetylierung mit 1 ml (6.9 mmol, 58 eq) Et_3N und 0.5 ml (5.0 mmol, 42 eq) Ac_2O für 45 min.
5. Schritt: Abspaltung mit 5 ml Propylamin / CH_2Cl_2 (1:1), 5 Tage.
6. Schritt: Entschützung mit 5 ml CH_2Cl_2 / TFA (5:1) 2 h.

^1H NMR (500 MHz, d_6 -DMSO, 25°C): δ = 8.98 (s, 1H; His), 8.97 (d, 1H; His), 8.33 (d, J = 7.8 Hz, 1H; His-NH), 8.20 (d, J = 7.8 Hz, 1H; His-NH), 8.11 (d, J = 7.1 Hz, Leu-NH), 8.00 (t, J = 5.6 Hz, 1H; $\text{NHCH}_2\text{CH}_2\text{CH}_3$), 7.35 (s, 1H; His), 7.31 (d, 1H; His), 4.52 (dt, J = 3.2 Hz, 8.4 Hz, 1H; His- H_α), 4.48 (dt, J = 6.2 Hz, 7.9 Hz, 1H; His- H_α), 4.16 (dt, J = 7.0 Hz, 9.5 Hz, 1H; Leu- H_α), 3.14-2.92 (m, 6H; His- H_β , $\text{NHCH}_2\text{CH}_2\text{CH}_3$), 1.84 (s, 3H; COCH_3), 1.53 (m, 1H; Leu- H_γ), 1.35 (m, 4H; Leu- H_β , $\text{NHCH}_2\text{CH}_2\text{CH}_3$), 0.86 (d, J = 6.6 Hz, 3H; Leu- H_δ), 0.81 (d, J = 4.8 Hz, 3H; Leu- H_δ'), 0.80 (t, J = 5.5 Hz, 3H; $\text{NHCH}_2\text{CH}_2\text{CH}_3$).

^{13}C NMR (125.6 MHz, d_6 -DMSO, 25°C): δ = 172.7, 169.9, 169.8, 169.5, 133.8, 129.4, 129.3, 116.8, 52.0, 51.7, 51.5, 40.5, 40.1, 27.0, 26.4, 24.1, 22.9, 22.4, 22.1, 21.6, 11.3.

MS (ESI): m/z (%): 489.3 (100) $[\text{M}+\text{H}]^+$.

15.1 h) Ac-Gly-L-His-L-His-NHPr · 2 TFA (17)

17 wurde analog zu **10** auf 100 mg (120 μ mol, 1.0 eq) Wang-Harz synthetisiert.

1. Schritt: Kupplung (Protokoll A, doppelte Kupplung) mit 4 ml CH_2Cl_2 , 223 mg (360 μ mol, 3.0 eq) Fmoc-L-His(Trt)-OH, 48.6 mg (360 μ mol, 3.0 eq) HOBt gelöst in 0.4 ml DMF, 1-2 mg (~ 12 μ mol, ~ 10 mol%) DMAP und 65 μ l (360 μ mol, 3.0 eq) DIC für 90 min. Fmoc-Entschützung (Protokoll B) mit zweimal 4 ml DMF/Piperidin (4:1).
2. Schritt: Kupplung (Protokoll A) mit 4 ml CH_2Cl_2 , 223 mg (360 μ mol, 3.0 eq) Fmoc-L-His(Trt)-OH, 48.6 mg (360 μ mol, 3.0 eq) HOBt gelöst in 0.4 ml DMF und 65 μ l (360 μ mol, 3.0 eq) DIC für 90 min. Fmoc-Entschützung (Protokoll B) mit zweimal 4 ml DMF/Piperidin (4:1).
3. Schritt: Kupplung (Protokoll A) mit 4 ml CH_2Cl_2 , 107 mg (360 μ mol, 3.0 eq) Fmoc-Gly-OH, 48.6 mg (360 μ mol, 3.0 eq) HOBt gelöst in 0.4 ml DMF und 65 μ l (360 μ mol, 3.0 eq) DIC für 90 min. Fmoc-Entschützung (Protokoll B) mit zweimal 4 ml DMF/Piperidin (4:1).
4. Schritt: Acetylierung mit 1 ml (6.9 mmol, 58 eq) Et_3N und 0.5 ml (5.0 mmol, 42 eq) Ac_2O für 45 min.
5. Schritt: Abspaltung mit 5 ml Propylamin / CH_2Cl_2 (1:1), 5 Tage.
6. Schritt: Entschützung mit 5 ml CH_2Cl_2 / TFA (5:1) 2 h.

^1H NMR (500 MHz, d_6 -DMSO, 25°C): δ = 8.97 (d, J = 1.2 Hz, 1H; His), 8.96 (d, J = 1.2 Hz, 1H; His), 8.29 (d, J = 7.9 Hz, 2H; His-NH), 8.23 (t, J = 5.8 Hz, 1H; Gly-NH), 7.94 (t, J = 5.6 Hz, 1H; $\text{NHCH}_2\text{CH}_2\text{CH}_3$), 7.34 (d, J = 1.2 Hz, 1H; His), 7.32 (d, J = 1.2 Hz, 1H; His), 4.55 (dt, J = 8.3 Hz, 5.1 Hz, 1H; His- H_α), 4.48 (dt, J = 8.3 Hz, 5.8 Hz, 1H; His- H_α), 3.14-2.91 (m, 6H; His- H_β , $\text{NHCH}_2\text{CH}_2\text{CH}_3$), 1.86 (s, 3H; COCH_3), 1.37 (m, 2H; $\text{NHCH}_2\text{CH}_2\text{CH}_3$), 0.80 (t, J = 7.4 Hz, 3H; $\text{NHCH}_2\text{CH}_2\text{CH}_3$).

^{13}C NMR (125.6 MHz, d_6 -DMSO, 25°C): δ = 170.2, 169.9, 169.6, 169.5, 133.8, 129.3, 116.9, 116.8, 52.1, 51.7, 42.3, 40.0, 26.9, 26.4, 22.4, 22.1, 11.3.

MS (ESI): m/z (%): 433.3 (100) $[\text{M}+\text{H}]^+$.

15.1 i) Ac-L-Pro-L-Phe-NHPr (18)

18 wurde analog zu **10** auf 100 mg (120 μ mol, 1.0 eq) Wang-Harz synthetisiert.

1. Schritt: Kupplung (Protokoll A, doppelte Kupplung) mit 4 ml CH_2Cl_2 , 139 mg (360 μ mol, 3.0 eq) Fmoc-Phe-OH, 48.6 mg (360 μ mol, 3.0 eq) HOBt gelöst in 0.4 ml DMF, 1-2 mg (~ 12 μ mol, ~ 10 mol%) DMAP und 65 μ l (360 μ mol, 3.0 eq) DIC für 90 min. Fmoc-Entschützung (Protokoll B) mit zweimal 4 ml DMF/Piperidin (4:1).
2. Schritt: Kupplung (Protokoll A) mit 4 ml CH_2Cl_2 , 121 mg (360 μ mol, 3.0 eq) Fmoc-L-Pro-OH, 48.6 mg (360 μ mol, 3.0 eq) HOBt gelöst in 0.4 ml DMF und 65 μ l (360 μ mol, 3.0 eq) DIC für 90 min. Fmoc-Entschützung (Protokoll B) mit zweimal 4 ml DMF/Piperidin (4:1).
3. Schritt: Acetylierung mit 1 ml (6.9 mmol, 58 eq) Et_3N und 0.5 ml (5.0 mmol, 42 eq) Ac_2O für 45 min.
4. Schritt: Abspaltung mit 5 ml Propylamin / CH_2Cl_2 (1:1), 5 Tage.
5. Schritt: Entschützung mit 5 ml CH_2Cl_2 / TFA (5:1) 2 h.

^1H NMR (500 MHz, CD_3OD , 25°C): Hauptkonformer: δ = 7.29 – 7.18 (m, 5H; Phe), 4.56 (dd, J = 9.0 Hz, 6.2 Hz 1H; Phe- H_α), 4.31 (m, 1H; Pro- H_α), 3.57 (m, 2H; Pro- H_δ , Pro- H_δ'), 3.20 (dd, J = 13.8 Hz, 6.2 Hz, 1H; Phe- H_β), 3.12 (m, 2H; $\text{NHCH}_2\text{CH}_2\text{CH}_3$), 2.95 (dd, J = 13.8 Hz, 9.0 Hz, 1H; Phe- H_β'), 2.09 (s, 3H; COCH_3), 2.07 (m, 1H; Pro- H_β), 1.88 (m, 1H; Pro- H_γ), 1.80 (m, 1H; Pro- H_γ'), 1.76 (m, 1H; Pro- H_β'), 1.46 (m, 2H; $\text{NHCH}_2\text{CH}_2\text{CH}_3$), 0.86 (t, J = 7.4 Hz, 3H; $\text{NHCH}_2\text{CH}_2\text{CH}_3$); Nebenkonformer: δ = 7.29 – 7.18 (m, 5H; Phe), 4.69 (dd, J = 9.9 Hz, 5.6 Hz 1H; Phe- H_α), 4.31 (m, 1H; Pro- H_α), 3.49 (m, 1H; Pro- H_δ), 3.43 (m, 1H; Pro- H_δ'), 3.11 (m, 1H; Phe- H_β), 3.08 (m, 2H; $\text{NHCH}_2\text{CH}_2\text{CH}_3$), 2.90 (dd, J = 13.8 Hz, 9.9 Hz, 1H; Phe- H_β'), 2.25 (m, 1H; Pro- H_γ), 2.09 (s, 3H; COCH_3), 2.07 (m, 1H; Pro- H_β), 1.96 (m, 1H; Pro- H_γ'), 1.76 (m, 1H; Pro- H_β'), 1.46 (m, 2H; $\text{NHCH}_2\text{CH}_2\text{CH}_3$), 0.87 (t, J = 7.4 Hz, 3H; $\text{NHCH}_2\text{CH}_2\text{CH}_3$).

^{13}C NMR (125.6 MHz, CD_3OD , 25°C): Hauptkonformer: δ = 174.4, 173.1, 173.1, 138.7, 130.3, 129.4, 127.8, 61.7, 56.0, 49.4, 42.3, 38.2, 30.6, 25.6, 23.4, 22.4, 11.7; Nebenkonformer: δ = 173.9, 173.2, 172.6, 138.4, 130.3, 129.5, 127.9, 62.4, 55.8, 47.9, 42.2, 39.3, 33.1, 23.7, 23.5, 22.0, 11.7.

MS (ESI): m/z (%): 368.4 (100) $[M+\text{Na}]^+$.

15.2 Peptide für Aldolreaktionen

15.2 a) H-L-Pro-D-Ala-D-Asp-NH₂ (27)

5.0 g (3.4 mmol, 1.0 eq) Rink-Amid Harz wurden in einem Merryfield-Kolben mit dreimal 20 ml CH₂Cl₂ gewaschen und anschliessend Fmoc-entschützt (Protokoll B). Dazu versetzte man das Harz für 2 min. mit 20 ml DMF/Piperidin (4:1), entfernte die Lösung und wiederholte die Prozedur für weitere 10 min. Danach wurde das Harz dreimal mit je 20 ml DMF und fünfmal mit 20 ml CH₂Cl₂ gewaschen.

Für die Kupplung (Protokoll A) der Aminosäure wurde das Harz in 20 ml CH₂Cl₂ suspendiert, mit 2.8 g (6.9 mmol, 2.0 eq) Fmoc-D-Asp(O^tBu)-OH und 1.38 g (10.2 mmol, 3.0 eq) HOBt gelöst in 1 ml DMF versetzt und für 2 min. geschüttelt. Nach der Zugabe von 1.5 ml (10.2 mmol, 3.0 eq) DIC liess man für weitere 90 min. schütteln und wusch die Reaktionslösung anschliessend mit dreimal 20 ml CH₂Cl₂ aus.

Zur Fmoc-Entschützung (Protokoll B) versetzte man das Harz für 2 min. mit 20 ml DMF/Piperidin (4:1), entfernte die Lösung und wiederholte die Prozedur für weitere 10 min. Danach wurde das Harz dreimal mit je 10 ml DMF und fünfmal mit 10 ml CH₂Cl₂ gewaschen.

Die Kupplung der zweiten Aminosäure erfolgte analog (Protokoll A) mit 20 ml CH₂Cl₂, 2.1 g (6.8 mmol, 2.0 eq) Fmoc-D-Ala-OH, 1.38 g (10.2 mmol, 3.0 eq) HOBt gelöst in 1 ml DMF und 1.5 ml (10.2 mmol, 3.0 eq) DIC. Nach 90 min. wurde die Reaktionslösung ausgewaschen und Fmoc-entschützt (Protokoll B).

Die Kupplung der dritten Aminosäure erfolgte analog (Protokoll A) mit 20 ml CH₂Cl₂, 1.46g (6.8 mmol, 2.0 eq) Boc-L-Pro-OH, 1.38 g (10.2 mmol, 3.0 eq) HOBt gelöst in 1 ml DMF und 1.5 ml (10.2 mmol, 3.0 eq) DIC. Nach 90 min. wurde die Reaktionslösung ausgewaschen und das Peptid gleichzeitig vom Harz abgespalten und entschützt, indem man dreimal für je 30 min. 30 ml TFA / CH₂Cl₂ (1:1) zusetzte und das Harz abfiltrierte. Die Lösungen wurden vereinigt und die flüchtigen Komponenten i.V. entfernt. Der ölige Rückstand wurde mit Et₂O ausgefällt und dreimal in der minimal nötigen Menge MeOH gelöst und wiederum mit Et₂O ausgefällt, anschliessend trocknete man i.V.

Der Rückstand wurde in der minimal nötigen Menge H₂O gelöst und über mittels Ionentauscherharz (Acetat-Form) in das Essigsäuresalz überführt, lyophilisiert und mit H₂O koevaporiert.

^1H NMR (500 MHz, D_2O , 22°C): δ = 4.40 (dd, J = 7.9 Hz, 5.3 Hz, 1H; Asp- $\text{H}\alpha$), 4.27 (dd, J = 8.6 Hz, 6.7 Hz, 1H; Pro- $\text{H}\alpha$), 4.22 (q, J = 7.2 Hz, 1H; Ala- $\text{H}\alpha$), 3.27 (m, 2H; Pro- $\text{H}\delta$), 2.54 (dd, J = 15.9 Hz, 5.3 Hz, 1H; Asp- $\text{H}\beta$), 2.48 (dd, J = 15.9 Hz, 7.9 Hz, 1H; Asp- $\text{H}\beta'$), 2.31 (m, 1H; Pro- $\text{H}\beta$), 1.92 (m, 3H; Pro- $\text{H}\beta'$, Pro- $\text{H}\gamma$), 1.26 (d, J = 7.2 Hz, 3H; Ala- $\text{H}\beta$).

^{13}C NMR (125.8 MHz, CDCl_3 , 22°C): δ = 177.6, 176.0, 174.3, 169.7, 59.7, 51.3, 50.0, 46.4, 38.4, 29.5, 23.7, 16.2.

MS (ESI): m/z (%): 301.4 (100) $[M+\text{H}]^+$, 323.4 (24) $[M+\text{Na}]^+$.

15.2 b) H-L-Pro-L-Pro-L-Asp- NH_2 · TFA (26)

26 wurde analog zu **27** auf 600 mg (720 μmol , 1.0 eq) Rink-Amid Harz synthetisiert.

1. Schritt: Kupplung (Protokoll A) mit 5 ml CH_2Cl_2 , 592 mg (1.4 mmol, 2.0 eq) Fmoc-L-Asp(O^tBu)-OH, 291 mg (2.1 mmol, 3.0 eq) HOBt gelöst in 0.5 ml DMF und 0.6 ml (3.5 mmol, 5.0 eq) DIC für 90 min. Fmoc-Entschützung (Protokoll B) mit zweimal 5 ml DMF/Piperidin (4:1).

2. Schritt: Kupplung (Protokoll A) mit 5 ml CH_2Cl_2 , 428 mg (1.4 mmol, 2.0 eq) Fmoc-L-Pro-OH, 291 mg (2.1 mmol, 3.0 eq) HOBt gelöst in 0.5 ml DMF und 0.6 ml (3.5 mmol, 5.0 eq) DIC für 90 min. Fmoc-Entschützung (Protokoll B) mit zweimal 5 ml DMF/Piperidin (4:1).

3. Schritt: Kupplung (Protokoll A) mit 5 ml CH_2Cl_2 , 310 mg (1.4 mmol, 2.0 eq) Boc-L-Pro-OH, 291 mg (2.1 mmol, 3.0 eq) HOBt gelöst in 0.5 ml DMF und 0.6 ml (3.5 mmol, 5.0 eq) DIC für 90 min.

4. Schritt: Entschützung und Abspaltung mit 3 x 5 ml CH_2Cl_2 / TFA (1:1) für je 30 min.

5. Schritt: Teile wurden mittels Ionenaustausch Chromatographie in das innere Salz überführt.

^1H -NMR (500 MHz, d_6 -DMSO, 23°C): Hauptkonformer: δ = 8.15 (d, J = 8.0 Hz, 1H; Asp-NH), 7.13 (s, 1H; CONHH'), 7.11 (s, 1H; CONHH'), 4.47 (dd, J = 8.3, 5.9 Hz, 1H; Pro- $\text{H}\alpha$), 4.41 (dq, J = 6.7, 14.4 Hz, 1H; Asp- $\text{H}\alpha$), 4.36 (dd, J = 8.5, 5.2 Hz, 1H; Pro'- $\text{H}\alpha$), 3.63 (m, 1H; Pro'- $\text{H}\delta$), 3.45 (m, 1H; Pro'- $\text{H}\delta'$), 3.24 (m, 1H; Pro- $\text{H}\delta$), 3.16 (m, 1H; Pro- $\text{H}\delta'$), 2.65 (dd, J = 16.4, 6.3 Hz, 1H; Asp- $\text{H}\beta$), 2.51 (dd, J = 16.4, 6.9 Hz, 1H;

Asp-H β '), 2.39 (m, 1H; Pro-H β), 2.12 (m, 1H; Pro'-H β), 1.97-1.79 (m, 6H; Pro-H β ', Pro'-H β ', 2Pro-H δ , 2Pro'H δ); Nebenkonomer: δ = 8.57 (d, J = 8.1Hz, 1H; Asp-NH), 7.41 (s, 1H; CONHH'), 7.13 (s, 1H; CONHH'), 4.53 (d ψ t, J = 5.3, 7.7Hz, 1H; Asp-H α), 4.42 (m, 1H; Pro'-H α), 3.93 (ψ t, J = 8.4Hz, 1H; Pro-H α), 3.52 (m, 1H; Pro'-H δ), 3.42 (m, 1H; Pro'-H δ '), 3.35 (m, 1H; Pro-H δ), 3.27 (m, 1H; Pro-H δ '), 2.72, (dd, J = 16.5, 5.4 Hz, 1H; Asp-H β), 2.55 (dd, J = 16.3, 8.6 Hz, 1H; Asp-H β '), 2.39 (m, 1H; Pro-H β), 2.24 (m, 1H; Pro'-H β), 2.04 (m, 1H; Pro'-H β '), 1.97-1.79 (m, 5H; Pro-H β ', 2Pro-H γ , 2Pro'H γ). Die Konformere wurden in einem Verhältnis von 5:2 beobachtet.

^{13}C -NMR (125.6 MHz, d $_6$ -DMSO, 23°C): Hauptkonformer: δ = 172.2, 171.9, 170.7, 167.1, 60.0, 58.3, 49.3, 46.8, 45.9, 36.0, 28.9, 27.9, 24.5, 23.5; Nebenkonomer: δ = 172.0, 172.0, 170.6, 166.8, 58.9, 58.4, 49.5, 47.4, 45.5, 36.3, 31.6, 27.3, 23.6, 22.0.

MS (ESI): m/z (%): 327.4 (100) $[M+H]^+$, 349.5 (24) $[M+Na]^+$.

15.2 c) H-D-Pro-L-Pro-L-Asp-NH $_2$ (30)

30 wurde analog zu **27** auf 600 mg (720 μ mol, 1.0 eq) Rink-Amid Harz synthetisiert.

1. Schritt: Kupplung (Protokoll A) mit 5 ml CH $_2$ Cl $_2$, 592 mg (1.4 mmol, 2.0 eq) Fmoc-L-Asp(O t Bu)-OH, 291 mg (2.1 mmol, 3.0 eq) HOBt gelöst in 0.5 ml DMF und 0.6 ml (3.5 mmol, 5.0 eq) DIC für 90 min. Fmoc-Entschützung (Protokoll B) mit zweimal 5 ml DMF/Piperidin (4:1).
2. Schritt: Kupplung (Protokoll A) mit 5 ml CH $_2$ Cl $_2$, 428 mg (1.4 mmol, 2.0 eq) Fmoc-L-Pro-OH, 291 mg (2.1 mmol, 3.0 eq) HOBt gelöst in 0.5 ml DMF und 0.6 ml (3.5 mmol, 5.0 eq) DIC für 90 min. Fmoc-Entschützung (Protokoll B) mit zweimal 5 ml DMF/Piperidin (4:1).
3. Schritt: Kupplung (Protokoll A) mit 5 ml CH $_2$ Cl $_2$, 310 mg (1.4 mmol, 2.0 eq) Boc-D-Pro-OH, 291 mg (2.1 mmol, 3.0 eq) HOBt gelöst in 0.5 ml DMF und 0.6 ml (3.5 mmol, 5.0 eq) DIC für 90 min.
4. Schritt: Entschützung und Abspaltung mit 3 x 5 ml CH $_2$ Cl $_2$ / TFA (1:1) für je 30 min.
5. Schritt: Überführung in das innere Salz mittels Ionenaustausch Chromatographie.

^1H NMR (500 MHz, D_2O , 22°C): δ = 4.51 (dd, J = 6.4Hz, 8.2Hz, 1H; Pro- H_α), 4.49 (dd, J = 5.4Hz, 8.2Hz, 1H; Asp- H_α), 4.33 (dd, J = 3.8Hz, 9.1Hz, 1H; Pro'- H_α), 3.60 (m, 1H; Pro'- H_δ), 3.47 (m, 1H; Pro'- H_δ'), 3.32 (m, 1H; Pro- H_δ), 3.25 (m, 1H; Pro- H_δ'), 2.69 (dd, J = 5.4Hz, 16.4Hz, 1H; Asp- H_β), 2.58 (dd, J = 8.4Hz, 16.4Hz, 1H; Asp- H_β'), 2.41 (m, 1H; Pro- H_β), 2.17 (m, 1H; Pro'- H_β), 1.90 (m, 6H; Pro- H_β' , Pro'- H_β' , Pro- H_γ , Pro'- H_γ).

^{13}C NMR (125.8 MHz, D_2O , 22°C): δ = 175.9, 175.4, 173.7, 168.4, 60.9, 59.2, 50.7, 47.6, 46.5, 36.9, 29.3, 27.9, 24.1, 23.8.

MS (ESI): m/z (%): 327.2 (100) $[M+\text{H}]^+$.

15.2 d) H-L-Pro-D-Pro-L-Asp-NH₂ (31)

31 wurde analog zu **27** auf 600 mg (720 μmol , 1.0 eq) Rink-Amid Harz synthetisiert.

1. Schritt: Kupplung (Protokoll A) mit 5 ml CH_2Cl_2 , 592 mg (1.4 mmol, 2.0 eq) Fmoc-L-Asp(O^tBu)-OH, 291 mg (2.1 mmol, 3.0 eq) HOBt gelöst in 0.5 ml DMF und 0.6 ml (3.5 mmol, 5.0 eq) DIC für 90 min. Fmoc-Entschützung (Protokoll B) mit zweimal 5 ml DMF/Piperidin (4:1).

2. Schritt: Kupplung (Protokoll A) mit 5 ml CH_2Cl_2 , 428 mg (1.4 mmol, 2.0 eq) Fmoc-D-Pro-OH, 291 mg (2.1 mmol, 3.0 eq) HOBt gelöst in 0.5 ml DMF und 0.6 ml (3.5 mmol, 5.0 eq) DIC für 90 min. Fmoc-Entschützung (Protokoll B) mit zweimal 5 ml DMF/Piperidin (4:1).

3. Schritt: Kupplung (Protokoll A) mit 5 ml CH_2Cl_2 , 310 mg (1.4 mmol, 2.0 eq) Boc-L-Pro-OH, 291 mg (2.1 mmol, 3.0 eq) HOBt gelöst in 0.5 ml DMF und 0.6 ml (3.5 mmol, 5.0 eq) DIC für 90 min.

4. Schritt: Entschützung und Abspaltung mit 3 x 5 ml CH_2Cl_2 / TFA (1:1) für je 30 min.

5. Schritt: Überführung in das innere Salz mittels Ionenaustausch Chromatographie.

^1H NMR (500 MHz, D_2O , 22°C): δ = 4.48 (m, 2H; Pro- H_α , Asp- H_α), 4.32 (dd, J = 4.6Hz, 8.8Hz, 1H; Pro'- H_α), 3.60 (m, 1H; Pro'- H_δ), 3.47 (m, 1H; Pro'- H_δ'), 3.31 (m, 1H; Pro- H_δ), 3.24 (m, 1H; Pro- H_δ'), 2.64 (dd, J = 4.7Hz, 16.3Hz, 1H; Asp- H_β), 2.53 (dd, J = 8.5Hz, 16.3Hz, 1H; Asp- H_β'), 2.42 (m, 1H; Pro- H_β), 2.15 (m, 1H; Pro'- H_β), 1.90 (m, 6H; Pro- H_β' , Pro'- H_β' , Pro- H_γ , Pro'- H_γ).

^{13}C NMR (125.8 MHz, D_2O , 22°C): δ = 176.6, 175.8, 173.9, 168.0, 61.0, 59.1, 50.9, 47.6, 46.5, 37.7, 29.3, 28.0, 24.3, 23.9.

MS (ESI): m/z (%): 327.2 (100) $[M+H]^+$, 349.1 (47) $[M+Na]^+$.

15.2 e) H-D-Pro-D-Pro-L-Asp-NH₂ (32)

32 wurde analog zu **27** auf 600 mg (720 μmol , 1.0 eq) Rink-Amid Harz synthetisiert.

1. Schritt: Kupplung (Protokoll A) mit 5 ml CH_2Cl_2 , 592 mg (1.4 mmol, 2.0 eq) Fmoc-L-Asp(O^tBu)-OH, 291 mg (2.1 mmol, 3.0 eq) HOBt gelöst in 0.5 ml DMF und 0.6 ml (3.5 mmol, 5.0 eq) DIC für 90 min. Fmoc-Entschützung (Protokoll B) mit zweimal 5 ml DMF/Piperidin (4:1).

2. Schritt: Kupplung (Protokoll A) mit 5 ml CH_2Cl_2 , 428 mg (1.4 mmol, 2.0 eq) Fmoc-D-Pro-OH, 291 mg (2.1 mmol, 3.0 eq) HOBt gelöst in 0.5 ml DMF und 0.6 ml (3.5 mmol, 5.0 eq) DIC für 90 min. Fmoc-Entschützung (Protokoll B) mit zweimal 5 ml DMF/Piperidin (4:1).

3. Schritt: Kupplung (Protokoll A) mit 5 ml CH_2Cl_2 , 310 mg (1.4 mmol, 2.0 eq) Boc-D-Pro-OH, 291 mg (2.1 mmol, 3.0 eq) HOBt gelöst in 0.5 ml DMF und 0.6 ml (3.5 mmol, 5.0 eq) DIC für 90 min.

4. Schritt: Entschützung und Abspaltung mit dreimal 5 ml CH_2Cl_2 / TFA (1:1) für je 30 min.

5. Schritt: Überführung in das innere Salz mittels Ionenaustausch Chromatographie.

^1H NMR (500 MHz, D_2O , 22°C): δ = 4.43 (m, 2H; Pro-H α , Asp-H α), 4.34 (ψ t, J = 7.3Hz, 1H; Pro'-H α), 3.58 (m, 1H; Pro'-H δ), 3.47 (m, 1H; Pro'-H δ'), 3.27 (m, 2H; Pro-H δ), 2.61 (dd, J = 4.7Hz, 16.3Hz, 1H; Asp-H β), 2.51 (dd, J = 8.4Hz, 16.2Hz, 1H; Asp-H β'), 2.42 (m, 1H; Pro-H β), 2.18 (m, 1H; Pro'-H β), 2.00-1.75 (m, 6H; Pro-H β' , Pro'-H β' , Pro-H γ , Pro'-H γ).

^{13}C NMR (125.8 MHz, D_2O , 22°C): δ = 176.9, 175.9, 173.7, 168.0, 60.9, 59.1, 50.9, 47.7, 46.5, 38.1, 29.2, 28.2, 24.7, 23.8.

MS (ESI): m/z (%): 327.2 (100) $[M+H]^+$, 349.1 (36) $[M+Na]^+$.

15.2 f) H-L-Pro-L-Pro-OH (33)

33 wurde analog zu **27** auf 500 mg (600 μ mol, 1.0 eq) Wang-Harz synthetisiert.

1. Schritt: Kupplung (Protokoll A) mit 5 ml CH_2Cl_2 , 404 mg (1.2 mmol, 2.0 eq) Fmoc-L-Pro-OH, 291 mg (2.1 mmol, 3.0 eq) HOBt gelöst in 0.5 ml DMF, 5 mg (41 μ mol, 7 mol%) DMAP und 0.6 ml (3.5 mmol, 5.0 eq) DIC für 90 min. Anschliessend wurde die Kupplung wiederholt und Fmoc-entschützt (Protokoll B): Zweimal 5 ml DMF/Piperidin (4:1).
2. Schritt: Kupplung (Protokoll A) mit 5 ml CH_2Cl_2 , 258 mg (1.2 mmol, 2.0 eq) Boc-L-Pro-OH, 291 mg (2.1 mmol, 3.0 eq) HOBt gelöst in 0.5 ml DMF und 0.6 ml (3.5 mmol, 5.0 eq) DIC für 90 min.
3. Schritt: Entschützung und Abspaltung mit dreimal 5 ml CH_2Cl_2 / TFA (1:1) für je 30 min.
4. Schritt: Überführung in das innere Salz mittels Ionenaustausch Chromatographie.

^1H NMR (500 MHz, D_2O , 22°C): δ = 4.29 (ψt , J = 7.8 Hz, 2H; Pro- $\text{H}\alpha$), 3.41 (m, 2H; Pro- $\text{H}\delta$), 3.30 (m, 2H; Pro- $\text{H}\delta'$), 2.16 (m, 2H; Pro- $\text{H}\beta$), 1.93 (m, 2H; Pro- $\text{H}\gamma$), 1.84 (m, 4H; Pro- $\text{H}\beta'$, Pro- $\text{H}\gamma'$).

^{13}C NMR (125.8 MHz, D_2O , 22°C): δ = 168.3, 60.6, 45.2, 27.2, 22.6.

MS (ESI): m/z (%): 211.1 (100) $[\text{M}-\text{H}]^-$.

15.2 g) H-L-Pro-D-Ala-D-Glu- NH_2 · TFA (34)

34 wurde analog zu **27** auf 600 mg (720 μ mol, 1.0 eq) Rink-Amid Harz synthetisiert.

1. Schritt: Kupplung (Protokoll A) mit 5 ml CH_2Cl_2 , 612 mg (1.4 mmol, 2.0 eq) Fmoc-D-Glu(O^tBu)-OH, 291 mg (2.1 mmol, 3.0 eq) HOBt gelöst in 0.5 ml DMF und 0.6 ml (3.5 mmol, 5.0 eq) DIC für 90 min. Fmoc-Entschützung (Protokoll B) mit zweimal 5 ml DMF/Piperidin (4:1).
2. Schritt: Kupplung (Protokoll A) mit 5 ml CH_2Cl_2 , 448 mg (1.4 mmol, 2.0 eq) Fmoc-D-Ala-OH, 291 mg (2.1 mmol, 3.0 eq) HOBt gelöst in 0.5 ml DMF und 0.6 ml (3.5 mmol, 5.0 eq) DIC für 90 min. Fmoc-Entschützung (Protokoll B) mit zweimal 5 ml DMF/Piperidin (4:1).

3. Schritt: Kupplung (Protokoll A) mit 5 ml CH₂Cl₂, 310 mg (1.4 mmol, 2.0 eq) Boc-L-Pro-OH, 291 mg (2.1 mmol, 3.0 eq) HOBt gelöst in 0.5 ml DMF und 0.6 ml (3.5 mmol, 5.0 eq) DIC für 90 min.

4. Schritt: Entschützung und Abspaltung mit 3 x 5 ml CH₂Cl₂ / TFA (1:1) für je 30 min.

¹H NMR (500 MHz, d₆-DMSO, 22 °C): δ = 8.72 (d, J = 7.3 Hz, 1H; Ala-NH), 8.16 (d, J = 8.1 Hz, 1H; Glu-NH), 7.31 (s, 1H; CONHH), 7.07 (s, 1H; CONHH) 4.38 (ψ quint, J = 7.1 Hz, 1H; Ala-H α), 4.17 (m, 2H; Pro-H α , Glu-H α), 3.20 (m, 2H; Pro-H δ), 2.29 (m, 1H; Pro-H β), 2.22 (m, 2H; Glu-H β), 1.94-1.70 (m, 5H; Pro-H β' , Pro-H γ , Glu-H γ), 1.23 (d, J = 7.1 Hz, 3H; Ala-H β).

¹³C NMR (125.8 MHz, d₆-DMSO, 22 °C): δ = 174.0, 172.9, 171.6, 167.9, 59.0, 51.8, 48.5, 45.7, 30.3, 29.7, 27.4, 23.6, 18.2.

MS (ESI): m/z (%): 315.2 (100) [$M+H$]⁺.

15.2 h) H-L-Pro-Gly-D-Asp-NH₂ (35)

35 wurde analog zu **27** auf 600 mg (720 μ mol, 1.0 eq) Rink-Amid Harz synthetisiert.

1. Schritt: Kupplung (Protokoll A) mit 5 ml CH₂Cl₂, 592 mg (1.4 mmol, 2.0 eq) Fmoc-D-Asp(O^tBu)-OH, 291 mg (2.1 mmol, 3.0 eq) HOBt gelöst in 0.5 ml DMF und 0.6 ml (3.5 mmol, 5.0 eq) DIC für 90 min. Fmoc-Entschützung (Protokoll B) mit zweimal 5 ml DMF/Piperidin (4:1).

2. Schritt: Kupplung (Protokoll A) mit 5 ml CH₂Cl₂, 428 mg (1.4 mmol, 2.0 eq) Fmoc-Gly-OH, 291 mg (2.1 mmol, 3.0 eq) HOBt gelöst in 0.5 ml DMF und 0.6 ml (3.5 mmol, 5.0 eq) DIC für 90 min. Fmoc-Entschützung (Protokoll B) mit zweimal 5 ml DMF/Piperidin (4:1).

3. Schritt: Kupplung (Protokoll A) mit 5 ml CH₂Cl₂, 310 mg (1.4 mmol, 2.0 eq) Boc-L-Pro-OH, 291 mg (2.1 mmol, 3.0 eq) HOBt gelöst in 0.5 ml DMF und 0.6 ml (3.5 mmol, 5.0 eq) DIC für 90 min.

4. Schritt: Entschützung und Abspaltung mit 3 x 5 ml CH₂Cl₂ / TFA (1:1) für je 30 min.

5. Schritt: Überführung in das innere Salz mittels Ionenaustausch Chromatographie.

^1H NMR (500 MHz, D_2O , 22°C): δ = 4.46 (dd, J = 5.1 Hz, 8.0 Hz, 1H; Asp- $\text{H}\alpha$), 4.32 (dd, J = 6.7 Hz, 8.6 Hz, 1H; Pro- $\text{H}\alpha$), 3.91 (d, J = 16.9 Hz, 1H; Gly- $\text{H}\alpha$), 3.87 (d, J = 16.9 Hz, 1H; Gly- $\text{H}\alpha'$), 3.28 (m, 2H; Pro- $\text{H}\delta$), 2.58 (dd, J = 5.1 Hz, 16.2 Hz, 1H; Asp- $\text{H}\beta$), 2.51 (dd, J = 8.0 Hz, 16.1 Hz, 1H; Asp- $\text{H}\beta'$), 2.33 (m, 1H; Pro- $\text{H}\beta$), 1.94 (m, 3H; Pro- $\text{H}\beta'$, Pro- $\text{H}\gamma$).

^{13}C NMR (125.8 MHz, D_2O , 22°C): δ = 177.2, 176.0, 170.8, 170.3, 59.7, 51.1, 46.3, 42.5, 38.2, 29.5, 23.7.

MS (ESI): m/z (%): 287.1 (100) $[M+\text{H}]^+$.

15.2 i) H-L-Pro-Aib-D-Asp- NH_2 · TFA (36)

36 wurde analog zu **27** auf 600 mg (720 μmol , 1.0 eq) Rink-Amid Harz synthetisiert.

1. Schritt: Kupplung (Protokoll A) mit 5 ml CH_2Cl_2 , 592 mg (1.4 mmol, 2.0 eq) Fmoc-D-Asp(O^tBu)-OH, 291 mg (2.1 mmol, 3.0 eq) HOBt gelöst in 0.5 ml DMF und 0.6 ml (3.5 mmol, 5.0 eq) DIC für 90 min. Fmoc-Entschützung (Protokoll B) mit zweimal 5 ml DMF/Piperidin (4:1).

2. Schritt: Kupplung (Protokoll A) mit 5 ml CH_2Cl_2 , 468 mg (1.4 mmol, 2.0 eq) Fmoc-Aib-OH, 291 mg (2.1 mmol, 3.0 eq) HOBt gelöst in 0.5 ml DMF und 0.6 ml (3.5 mmol, 5.0 eq) DIC für 90 min. Fmoc-Entschützung (Protokoll B) mit zweimal 5 ml DMF/Piperidin (4:1).

3. Schritt: Kupplung (Protokoll A) mit 5 ml CH_2Cl_2 , 310 mg (1.4 mmol, 2.0 eq) Boc-L-Pro-OH, 291 mg (2.1 mmol, 3.0 eq) HOBt gelöst in 0.5 ml DMF und 0.6 ml (3.5 mmol, 5.0 eq) DIC für 90 min.

4. Schritt: Entschützung und Abspaltung mit dreimal 5 ml CH_2Cl_2 / TFA (1:1) für je 30 min.

^1H NMR (500 MHz, d_6 -DMSO, 22°C): δ = 8.73 (s, 1H; Aib-NH), 7.81 (d, J = 8.2 Hz, 1H; Asp-NH), 7.12 (s, 1H; CONH_2), 6.88 (s, 1H; CONH_2), 4.41 ($\text{d}_{\text{H}\alpha}$, J = 5.1 Hz, 8.1 Hz, 1H; Asp- $\text{H}\alpha$), 4.12 (dd, J = 6.7 Hz, 8.8 Hz, 1H; Pro- $\text{H}\alpha$), 3.16 (m, 2H; Pro- $\text{H}\delta$), 2.69 (dd, J = 5.2 Hz, 16.3 Hz, 1H; Asp- $\text{H}\beta$), 2.51 (dd, J = 8.2 Hz, 16.2 Hz, 1H; Asp- $\text{H}\beta'$), 2.23 (m, 1H; Pro- $\text{H}\beta$), 1.84 (m, 3H; Pro- $\text{H}\beta$, Pro- $\text{H}\gamma$), 1.33 (s, 3H; Aib- $\text{H}\beta$), 1.31 (s, 3H; Aib- $\text{H}\beta'$).

^{13}C NMR (125.8 MHz, $\text{d}_6\text{-DMSO}$, 22°C): δ = 173.0, 172.7, 172.7, 168.4, 59.1, 56.4, 54.9, 49.9, 45.9, 35.7, 29.5, 25.0, 24.6, 23.5.

MS (ESI): m/z (%): 315.4 (100) $[M+H]^+$.

15.2 k) H-L-Pro-D-Ala-OH · TFA (38)

38 wurde analog zu **27** auf 500 mg (600 μmol , 1.0 eq) Wang-Harz synthetisiert.

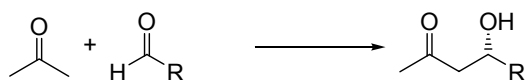
1. Schritt: Kupplung (Protokoll A) mit 5 ml CH_2Cl_2 , 268 mg (1.2 mmol, 2.0 eq) Fmoc-D-Ala-OH, 291 mg (2.1 mmol, 3.0 eq) HOBt gelöst in 0.5 ml DMF, 5 mg (41 μmol , 7 mol%) DMAP und 0.6 ml (3.5 mmol, 5.0 eq) DIC für 90 min. Anschliessend wurde die Kupplung wiederholt und Fmoc-entschützt (Protokoll B): Zweimal 5 ml DMF/Piperidin (4:1).
2. Schritt: Kupplung (Protokoll A) mit 5 ml CH_2Cl_2 , 258 mg (1.2 mmol, 2.0 eq) Boc-L-Pro-OH, 291 mg (2.1 mmol, 3.0 eq) HOBt gelöst in 0.5 ml DMF und 0.6 ml (3.5 mmol, 5.0 eq) DIC für 90 min.
3. Schritt: Entschützung und Abspaltung mit dreimal 5 ml CH_2Cl_2 / TFA (1:1) für je 30 min.
4. Schritt: Entschützung und Abspaltung mit dreimal 5 ml CH_2Cl_2 / TFA (1:1) für je 30 min.

^1H NMR (500 MHz, $\text{d}_6\text{-DMSO}$, 22°C): Hauptkonformer: δ = 8.84 (d, J = 7.3Hz, 1H; Ala-NH), 4.26 (ψ quint, J = 7.3Hz, 1H; Ala-H α), 4.15 (m, 1H; Pro-H α), 3.20 (m, 2H; Pro-H δ), 2.29 (m, 1H; Pro-H β), 1.85 (m, 3H; Pro-H β' , Pro-H γ), 1.31 (d, J = 7.0Hz, 3H; Ala-H β); Nebenkonomer: δ = 8.84 (d, J = 7.0Hz, 1H; Ala-NH), 4.33 (ψ quint, J = 7.2Hz, 1H; Ala-H α), 4.15 (m, 1H; Pro-H α), 3.20 (m, 2H; Pro-H δ), 2.29 (m, 1H; Pro-H β), 1.85 (m, 3H; Pro-H β' , Pro-H γ), 1.32 (d, J = 7.1Hz, 3H; Ala-H β). Es konnten zwei Konformere im Verhältnis 2:1 festgestellt werden.

^{13}C NMR (125.8 MHz, $\text{d}_6\text{-DMSO}$, 22°C): Hauptkonformer: δ = 173.5, 168.0, 59.0, 48.0, 45.7, 29.6, 23.5, 17.2; Nebenkonomer: δ = 172.5, 168.2, 58.9, 48.0, 45.6, 29.5, 23.5, 16.9.

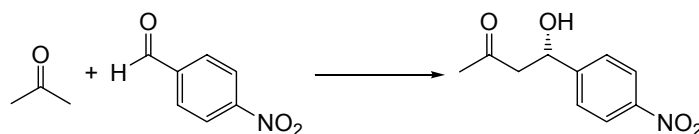
MS (ESI): m/z (%): 187.2 (100) $[M+H]^+$.

16. Synthese und analytische Daten der Aldolprodukte



16. a) Generelle Prozedur für Aldolreaktionen in Lösung

Peptid **26** (0.066 mmol, 1 mol%) wurde in 25 ml Aceton (0.34 mol) suspendiert. Nachdem man den Aldehyd (6.62 mmol) zugegeben hatte, rührte man für 4-72 h. Die Reaktion wurde durch Zugabe von 25 ml halb gesättigter NH_4Cl -Lsg. gequenchet und mit viermal 20 ml Et_2O extrahiert. Die organischen Phasen wurden mit ges. NaCl -Lsg gewaschen und über Na_2SO_4 getrocknet. Die flüchtigen Bestandteile wurden i.V. entfernt und der Rückstand über Kieselgel gereinigt (90 g, $\text{Et}_2\text{O}/\text{CH}_2\text{Cl}_2$ 1:3). Die Enantiomerenüberschüsse wurden mittels chiraler HPLC ($\text{R} = 4\text{-NO}_2\text{-Ph}$) oder chiraler GC ($\text{R} = \text{Ph}$; *i*-Pr, *c*-Hex, *neo*-Pent) bestimmt.



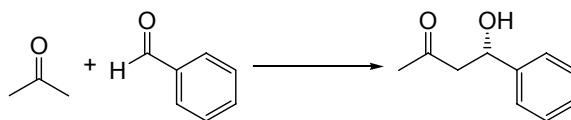
16. b) 4-(S)-Hydroxy-4-(p-nitrophenyl)-butan-2-on (**83**)

HPLC Normalphase, Macherey-Nagel Nucleosil 100-5, 250-4.6, isokratisch; 24% B in A (A: n-Hexan; B: n-Hexan / 2-PrOH 1:1), 25°C, 1 ml/min., 20 min., 260 nm, Retentionszeit: 11.8 min.

HPLC chirale Phase: Daicel Chiralcel AS, 250-4.6, isokratisch 100% B (B: n-Hexan / 2-PrOH 1:1), 40°C, 0.5 ml/min., 20 min., 260 nm, Retentionszeiten: 12.8 min. (*R*), 15.2 min. (*S*).

$^1\text{H-NMR}$ (400 MHz, CDCl_3 , 25°C): $\delta = 8.16$ (ψd , $J = 8.8$ Hz, 2H; ar), 7.51 (ψd , $J = 8.5$ Hz, 2H; ar), 5.24 (m, 1H; C(4)*H*), 3.72 (d, $J = 2.1$ Hz, 1H; OH), 2.85 (s, 1H; C(3)*H*), 2.83 (d, $J = 1.3$ Hz, 1H; C(3)*H'*), 2.20 (s, 3H; C(1)*H*₃).

$^{13}\text{C-NMR}$ (100.6 MHz, CDCl_3 , 25°C): $\delta = 208.9, 150.5, 147.7, 126.8, 124.1, 69.3, 51.9, 31.1$.

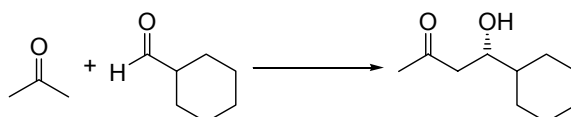


16. c) 4-(S)-Hydroxy-4-phenylbutan-2-on (84)

GC chirale Phase: β -Cyclodextrin SE54, 80°C, 1 min., 2°C/min. auf 130°C, 2 min., 25°C/min. auf 180°C, 2 min. Retentionszeiten: 30.9 min. (*R*), 31.1 min. (*S*).

$^1\text{H-NMR}$ (400 MHz, CDCl_3 , 25°C): δ = 7.3 (m, 5H; ar), 5.15 (dt, J = 9.0Hz, 3.0Hz, 1H; C(4)*H*), 3.31 (d, J = 3.0Hz, 1H; OH), 2.88 (dd, J = 17.5Hz, 9.0Hz, 1H; C(3)*H*), 2.81 (dd, J = 17.5Hz, 3.4Hz, 1H; C(3)*H'*), 2.19 (s, 3H; C(1)*H*₃).

$^{13}\text{C-NMR}$ (100.6 MHz, CDCl_3 , 25°C): δ = 209.1, 142.7, 128.5, 127.6, 125.6, 69.8, 51.9, 30.7.

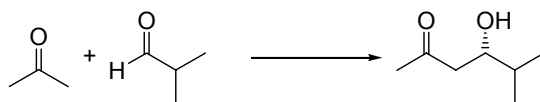


16. d) 4-(S)-Hydroxy-4-cyclohexylbutan-2-on (85)

GC chirale Phase: β -Cyclodextrin SE54, 80°C, 1 min., 2°C/min. auf 130°C, 3 min., 18°C/min. auf 180°C, 5 min. Retentionszeiten: 27.3 min. (*S*), 28.3 min. (*R*).

$^1\text{H-NMR}$ (400 MHz, CDCl_3 , 25°C): δ = 3.81 (ddd, J = 9.0Hz, 5.4Hz, 2.8Hz, 1H; C(4)*H*), 2.40 (s, 1H; OH), 2.63 (dd, J = 17.4Hz, 2.8Hz, 1H; C(3)*H*), 2.54 (dd, J = 17.4Hz, 9.3Hz, 1H; C(3)*H'*), 2.19 (s, 3H; C(1)*H*₃), 1.60-1.90 (m, 5H; c-Hex), 0.83-1.30 (m, 6H; c-Hex).

$^{13}\text{C-NMR}$ (100.6 MHz, CDCl_3 , 25°C): δ = 210.4, 71.6, 47.1, 42.9, 30.9, 28.8, 28.3, 26.4, 26.2, 26.1.

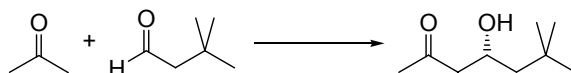


16. e) 4-(*S*)-Hydroxy-5-methylhexan-2-on (86)

GC chirale Phase: FS-Hydrodex, 60°C, 1 min., 2°C/min. auf 110°C, 3 min., 25°C/min. auf 180°C, 2 min. Retentionszeiten: 17.6 min. (*S*), 18.2 min. (*R*).

$^1\text{H-NMR}$ (400 MHz, CDCl_3 , 25°C): δ = 3.80 (m, 1H; C(4)*H*), 2.92 (s, 1H; OH), 2.60 (dd, J = 17.6Hz, 2.8Hz, 1H; C(3)*H*), 2.51 (dd, J = 17.6Hz, 9.6Hz, 1H; C(3)*H'*), 2.10 (s, 3H; C(1) H_3), 1.66 (dq, J = 6.8Hz, 6.8 Hz, 1H; C(5)*H*), 0.92 (d, J = 6.8 Hz, 3H; C(6) H_3), 0.90 (d, J = 6.8, 3H; C(6') H_3).

$^{13}\text{C-NMR}$ (100.6 MHz, CDCl_3 , 25°C): δ = 210.7, 72.6, 47.3, 33.4, 31.2, 18.7, 18.2.



16. f) 4-(*R*)-Hydroxy-6,6-dimethylheptan-2-on (87)

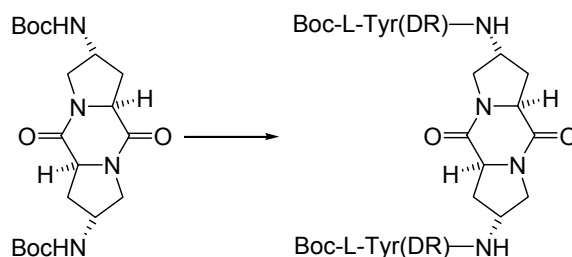
GC chirale Phase: β -Cyclodextrin SE54, 60°C, 1 min., 2°C/min. auf 110°C, 2 min., 25°C/min. auf 180°C, 2 min. Retentionszeiten: 20.0 min. (*R*), 20.7 min. (*S*).

$^1\text{H-NMR}$ (400 MHz, CDCl_3 , 25°C): δ = 4.20 (m, 1H; C(4)*H*), 2.88 (d, J = 3.2Hz, 1H; OH), 2.55 (m, 2H; C(3)*H*), 2.17 (s, 3H; C(1) H_3), 1.47 (dd, J = 14.4Hz, 8.6Hz, 1H; C(5)*H*), 1.19 (dd, J = 14.5Hz, 2.3Hz, 1H; C(5)*H'*), 0.96 (s, 9H; C(6)(CH_3) $_3$)

$^{13}\text{C-NMR}$ (100.6 MHz, CDCl_3 , 25°C): δ = 210.1, 65.3, 51.7, 49.8, 30.7, 30.3, 30.0.

17. Synthese der wasserlöslichen Rezeptoren

17.1 Synthese der zweiarmigen Rezeptoren



17.1 a) Zweiarmiger Rezeptorvorläufer 73

500 mg (1.18 mmol, 1.0 eq) **50**^[68a] wurden in 20 ml CH₂Cl₂ gelöst und mit 7 ml TFA versetzt. Nach 2 h wurde das Lösungsmittel am R.V. entfernt und die Verbindung viermal mit je 20 ml Et₂O gefällt und gewaschen. Der weisse Niederschlag wurde in einem Gemisch aus 10 ml CH₂Cl₂, 1 ml DMF und 400 µl (2.36 mmol, 2 eq) Hünig-Base gelöst. 1.79 g (4.71 mmol, 4.0 eq) HATU wurden in 5 ml DMF gelöst, mit 807 µl (4.71 mmol, 4.0 eq) Hünig-Base versetzt und unter Eiskühlung zu einer Lösung von 2.72g (4.71 mmol, 4.0 eq) Boc-L-Tyr(DR)-OH gegeben. Das voraktivierte Tyrosin-Derivat wurde anschliessend unter Eiskühlung zum gelösten Amin gegeben und auf Raumtemperatur erwärmt. Nach 1 h wurde die braun-rote Lösung mit 300 ml CH₂Cl₂ verdünnt und mit zweimal 150 ml 0.1M Na-Phosphat Puffer (pH 5.5) und 100 ml ges. NaCl-Lösung extrahiert. Die wässrigen Phasen wurden noch zweimal mit je 200 ml CH₂Cl₂ extrahiert, die organischen Phasen über Na₂SO₄ getrocknet und das Lösungsmittel am R.V. entfernt. Zur Reinigung wurde über Kieselgel chromatographiert. 1. Säule: Gradient CH₂Cl₂/2-6% MeOH, 2. Säule Gradient EtOAc/3-8% iPrOH.

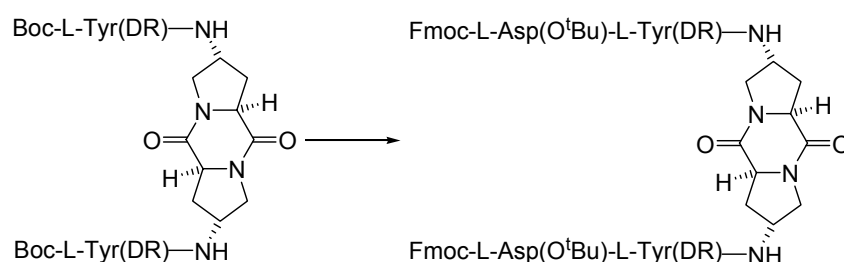
Ausbeute: 1.58 g (1.18 mmol, quant.) roter Festkörper.

¹H NMR (500 MHz, d₆-DMSO, 22 °C): δ = 8.35 (m, 4H; ar), 8.25 (d, J = 6.5Hz, 2H; Pro-H γ), 7.92 (m, 4H; ar), 7.84 (m, 4H; ar), 7.13 (m, 4H; ar), 6.93 (m, 4H; ar), 6.87 (d, J = 8.31Hz, 2H; Tyr-NH), 6.83 (m, 4H; ar), 4.28 (ψ t, J = 8.3Hz, 2H; Pro-H α), 4.19 (br, 2H; Pro-H γ), 4.14 (t, J = 5.4 Hz, 4H; OCH₂CH₂N), 4.04 (ψ td, J = 8.6Hz, 6.1Hz, 2H; Tyr-H α), 3.83 (t, J = 5.3Hz, 4H; OCH₂CH₂N), 3.63 (dd, J = 6.1Hz, 8.5Hz, 2H; Pro-H δ), 3.59 (q, J = 7.0Hz, 4H; NCH₂CH₃), 3.20 (d, J = 11.6Hz, 2H; Pro-H δ'), 2.80 (dd, J = 5.4Hz, 13.6Hz, 2H; Tyr-H β), 2.69 (dd, J = 9.3Hz, 14.6Hz, 2H; Tyr-H β'), 2.10 (br,

2H; Pro-H β), 1.89 (br, 2H; Pro-H β '), 1.28 (s, 18H; ^tBu), 1.18 (t, J = 7.0Hz, 6H; NCH₂CH₃).

¹³C NMR (125.8 MHz, d₆-DMSO, 22°C): δ = 171.4, 165.7, 156.9, 156.2, 155.2, 151.6, 146.8, 142.8, 130.3, 130.1, 126.1, 125.0, 122.5, 114.0, 111.7, 79.2, 78.0, 65.2, 58.2, 55.8, 50.5, 49.2, 46.9, 45.3, 36.9, 33.3, 28.1, 27.9, 12.1.

MS (ESI): m/z (%): 1365.2 (100) [M+Na]⁺.



17.1 b) Zweiarmer Rezeptorvorläufer **74**

1.58 g (1.18 mmol, 1.0 eq) **73** wurden in 16 ml MeOH gelöst und mit 22 ml 4M HCl/Dioxan versetzt. Die flüchtigen Komponenten wurden nach 90 min. am R.V. entfernt und der Rückstand mit zweimal 30 ml Et₂O gefällt und gewaschen. Der Niederschlag wurde mit 13 ml CH₂Cl₂ und 810 μ l Hünig-Base (4.72 mmol, 4.0 eq) gelöst und mit 1.94 g (4.72 mmol, 4.0 eq) Fmoc-L-Asp(O^tBu)-OH und 1.12 g (5.9 mmol, 5.0 eq) EDC versetzt. Nach 15 min. wurde die entstandene Suspension mit zusätzlichen 40 ml CH₂Cl₂ und 5 ml MeOH in eine Lösung überführt. Nach weiteren 90 min. wurden die Lösungsmittel am R.V. entfernt und das Produkt über Kieselgel gereinigt. Gradient CH₂Cl₂/2-6% MeOH.

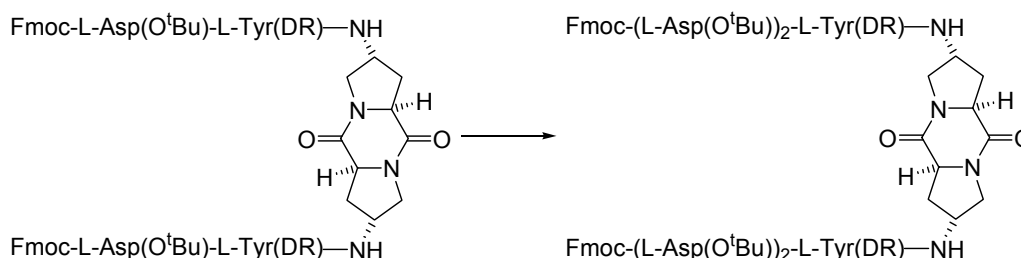
Ausbeute: 1.21 g (628 μ mol, 53%) roter Festkörper.

¹H NMR (500 MHz, d₆-DMSO, 22°C): δ = 8.32 (ψ d, J = 9.1Hz, 4H; DR-ar), 7.94 (d, J = 6.0Hz, 2H; Asp-NH), 7.90 (m, 8H; DR-ar), 7.74 (d, J = 7.6Hz, 4H; Fmoc-ar), 7.61 (d, J = 7.5Hz, 2H; Fmoc-ar), 7.55 (dd, J = 7.5Hz, 0.6Hz, 2H; Fmoc-ar), 7.42 (d, J = 8.0Hz, 2H; Tyr-NH), 7.38 (q, J = 7.9Hz, 4H; Fmoc-ar), 7.30 (dt, J = 1.0Hz, 7.5Hz, 2H; Fmoc-ar), 7.25 (ψ t, J = 7.6Hz, 4H; Fmoc-ar, Pro-H γ), 7.09 (d, J = 8.6Hz, 4H; Tyr-ar), 6.79 (d, J = 9.2Hz, 4H; Fmoc-ar), 6.72 (d, J = 8.6Hz, 4H; Tyr-ar), 4.50 (m, 6H; Pro-H α , Pro-H γ , Tyr-H α), 4.37 (dd, J = 7.7Hz, 10.4Hz, 2H; Fmoc-CH₂), 4.33 (dd, J =

4.9Hz, 6.4Hz, 2H; Asp-H α), 4.26 (dd, J = 7.1Hz, 10.2Hz, 2H; Fmoc-CH₂), 4.16 (ψ t, J = 7.3Hz, 2H; Fmoc-CH), 4.05 (t, J = 5.4 Hz, 4H; OCH₂CH₂N), 3.79 (t, J = 5.6Hz, 4H; OCH₂CH₂N), 3.68 (dd, J = 12.6Hz, 8.7Hz, 2H; Pro-H δ), 3.58 (q, J = 7.1Hz, 4H; NCH₂CH₃), 3.47 (d, J = 12.6Hz, 2H; Pro-H δ'), 3.29 (dd, J = 14.1Hz, 3.7Hz, 2H; Tyr-H β), 2.87 (dd, J = 14.4Hz, 10.9Hz, 2H; Tyr-H β'), 2.66 (dd, J = 17.3Hz, 4.7Hz, 2H; Asp-H β), 2.51 (dd, J = 17.2Hz, 7.2Hz, 2H; Asp-H β'), 2.31 (m, 4H; Pro-H β), 1.44 (s, 18H; ^tBu), 1.26 (t, J = 7.0Hz, 6H; NCH₂CH₃), 1.22 (s, 18H; ^tBu).

¹³C NMR (125.8 MHz, d₆-DMSO, 22°C): δ = 170.4, 170.3, 169.3, 165.6, 156.9, 156.2, 155.8, 151.7, 151.6, 146.8, 143.8, 143.7, 142.8, 140.7, 130.3, 129.4, 127.7, 127.1, 126.1, 125.2, 125.0, 122.5, 120.1, 114.2, 113.9, 111.7, 111.7, 80.3, 80.1, 79.2, 65.8, 65.2, 65.1, 58.1, 54.1, 51.4, 50.5, 49.1, 46.9, 46.6, 45.3, 37.4, 37.0, 33.3, 27.8, 27.7, 12.0.

MS (ESI): m/z (%): 1952.2 (100) [M+Na]⁺.



17.1 c) Zweiarmer Rezeptorvorläufer 75

1.30 g (674 μ mol, 1.0 eq) **74** wurden in 4.5 ml CH₂Cl₂ und 0.5 ml MeOH gelöst, mit 5.0 ml (33.7 mmol, 50 eq) TAEA versetzt, nach 2 h mit 500 ml CH₂Cl₂ verdünnt und mit zweimal 250 ml 0.1M Na-Phosphat Puffer (pH 5.5) und 250 ml ges. NaCl-Lösung extrahiert. Die wässrigen Phasen wurden zweimal mit je 350 ml CH₂Cl₂ rückextrahiert, die organischen Phasen über Na₂SO₄ getrocknet und das Lösungsmittel am R.V. entfernt. Der rote Festkörper wurde in 30 ml CH₂Cl₂ gelöst und mit 1.11 g (2.7 mmol, 4.0 eq) Fmoc-L-Asp(O^tBu)-OH und 772 mg (4.0 mmol, 6.0 eq) EDC versetzt. Nach 1 h wurde die Lösung mit Celite vermengt und das Lösungsmittel am R.V. entfernt. Der imprägnierte Celite wurde direkt auf Kieselgel aufgetragen und das Produkt chromatographiert, Gradient CH₂Cl₂/0.5-3% MeOH.

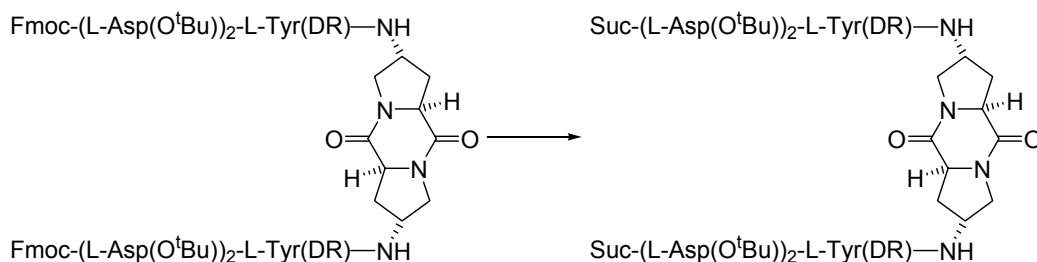
Ausbeute: 1.35 g (594 μ mol, 88%) roter Festkörper.

R_f: 0.6 (CH₂Cl₂/10% MeOH)

¹H NMR (500 MHz, d₆-DMSO, 22°C): δ = 8.32 (ψd, *J* = 9.1Hz, 4H; DR-ar), 7.94 (d, *J* = 6.0Hz, 2H; Asp-NH), 7.90 (m, 8H; DR-ar), 7.74 (d, *J* = 7.6Hz, 4H; Fmoc-ar), 7.61 (d, *J* = 7.5Hz, 2H; Fmoc-ar), 7.55 (dd, *J* = 7.5Hz, 0.6Hz, 2H; Fmoc-ar), 7.42 (d, *J* = 8.0Hz, 2H; Tyr-NH), 7.38 (q, *J* = 7.9Hz, 4H; Fmoc-ar), 7.33 (m, 2H; Asp'-NH), 7.30 (dt, *J* = 1.0Hz, 7.5Hz, 2H; Fmoc-ar), 7.25 (ψt, *J* = 7.6Hz, 4H; Fmoc-ar, Pro-H_γ), 7.09 (d, *J* = 8.6Hz, 4H; Tyr-ar), 6.79 (d, *J* = 9.2Hz, 4H; Fmoc-ar), 6.72 (d, *J* = 8.6Hz, 4H; Tyr-ar), 4.50 (m, 6H; Pro-H_α, Pro-H_γ, Tyr-H_α), 4.40 (dd, *J* = 4.4Hz, 9.1Hz, 2H; Asp'-H_α), 4.37 (dd, *J* = 7.7Hz, 10.4Hz, 2H; Fmoc-CH₂), 4.33 (dd, *J* = 4.9Hz, 6.4Hz, 2H; Asp-H_α), 4.26 (dd, *J* = 7.1Hz, 10.2Hz, 2H; Fmoc-CH₂), 4.16 (ψt, *J* = 7.3Hz, 2H; Fmoc-CH), 4.05 (t, *J* = 5.4 Hz, 4H; OCH₂CH₂N), 3.79 (t, *J* = 5.6Hz, 4H; OCH₂CH₂N), 3.68 (dd, *J* = 12.6Hz, 8.7Hz, 2H; Pro-H_δ), 3.58 (q, *J* = 7.1Hz, 4H; NCH₂CH₃), 3.47 (d, *J* = 12.6Hz, 2H; Pro-H_δ'), 3.29 (dd, *J* = 14.1Hz, 3.7Hz, 2H; Tyr-H_β), 2.97 (dd, *J* = 16.8Hz, 9.6Hz, 2H; Asp'-H_β), 2.87 (dd, *J* = 14.4Hz, 10.9Hz, 2H; Tyr-H_β'), 2.66 (dd, *J* = 17.3Hz, 4.7Hz, 2H; Asp-H_β), 2.63 (dd, *J* = 18.4Hz, 4.6Hz, 2H; Asp'-H_β'), 2.51 (dd, *J* = 17.2Hz, 7.2Hz, 2H; Asp-H_β'), 2.31 (m, 4H; Pro-H_β), 1.44 (s, 18H; ^tBu), 1.26 (t, *J* = 7.0Hz, 6H; NCH₂CH₃), 1.22 (s, 18H; ^tBu).

¹³C NMR (125.8 MHz, d₆-DMSO, 22°C): δ = 171.2, 171.3, 170.9, 170.8, 170.7, 169.6, 167.3, 157.1, 156.7, 156.6, 151.2, 147.2, 143.6, 153.5, 143.4, 141.1, 141.0, 129.8, 127.7, 127.1, 170.0, 126.2, 125.0, 124.9, 124.6, 122.4, 119.8, 114.2, 111.3, 82.2, 81.7, 67.3, 65.1, 58.7, 55.3, 55.2, 51.2, 50.8, 50.2, 49.7, 48.0, 47.8, 46.8, 46.0, 36.8, 35.7, 35.3, 33.7, 27.9, 27.6, 12.1.

MS (ESI): *m/z* (%): 2294.2 (100) [M+Na]⁺.



17.1 d) Zweiarmer succinylierter Rezeptorvorläufer **76**

250 mg (110 μmol , 1.0 eq) **75** wurden in 3.0 ml CH_2Cl_2 gelöst, mit 821 μl (5.5 mmol, 50 eq) TAEA versetzt, nach 90 min. mit 100 ml CH_2Cl_2 verdünnt und mit zweimal 100 ml 0.1M Na-Phosphat Puffer (pH 5.5) und 100 ml ges. NaCl-Lösung extrahiert. Die wässrigen Phasen wurden zweimal mit je 100 ml CH_2Cl_2 rückextrahiert, die organischen Phasen über Na_2SO_4 getrocknet und das Lösungsmittel am R.V. entfernt. Der rote Festkörper wurde in 5 ml CH_2Cl_2 gelöst und mit 220 mg (2.2 mmol, 20 eq) Bernsteinsäureanhydrid versetzt. Nach 3 h wurde die Suspension mit 100 ml CH_2Cl_2 verdünnt und mit zweimal 100 ml 0.1M Na-Phosphat Puffer (pH 5.5) und 100 ml ges. NaCl-Lösung extrahiert. Die wässrigen Phasen wurden zweimal mit je 100 ml CH_2Cl_2 rückextrahiert, die organischen Phasen über Na_2SO_4 getrocknet und das Lösungsmittel am R.V. entfernt. Das Produkt wurde anschliessend mittels Säulenchromatographie gereinigt, Gradient CH_2Cl_2 /0.5%-1% AcOH/3%-5% MeOH.

Ausbeute: 182 mg (89.5 μmol , 81%) roter Festkörper.

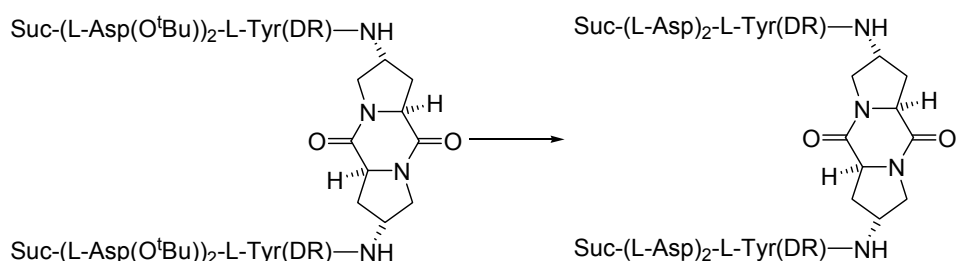
R_f: 0.4 (CH_2Cl_2 /4% AcOH/6% MeOH)

^1H NMR (500 MHz, $\text{d}_6\text{-DMSO}$, 22 °C): δ = 8.35 (ψd , J = 9.1Hz, 4H; DR-ar), 8.25 (d, J = 8.0Hz, 2H; Asp-NH), 8.20 (d, J = 6.4Hz, 2H; Pro-H γ), 8.11 (d, J = 8.0Hz, 2H; Asp'-NH), 7.92 (ψt , J = 9.1Hz, 4H; DR-ar), 7.84 (ψt , J = 9.2Hz, 4H; DR-ar), 7.76 (d, J = 6.8Hz, 2H; Tyr-NH), 7.09 (d, J = 8.7Hz, 4H; Tyr-ar), 6.94 (d, J = 9.4Hz, 4H; DR-ar), 6.83 (d, J = 8.7Hz, 4H; Tyr-ar), 4.57 ($\text{d}\psi\text{t}$, J = 5.8Hz, 8.1Hz, 2H; Asp-H α), 4.49 (ψq , J = 6.6Hz, 2H; Asp-H α), 4.33 (ψq , J = 7.7Hz, 2H; Tyr-H α), 4.27 (ψt , J = 8.1Hz, 2H; Pro-H γ), 4.14 (t, br, J = 5.5 Hz, 6H; $\text{OCH}_2\text{CH}_2\text{N}$, Pro-H α), 3.84 (t, J = 5.2Hz, 4H; $\text{OCH}_2\text{CH}_2\text{N}$), 3.61 (m, 6H; NCH_2CH_3 , Pro-H δ), 3.15 (m, J = 11.0Hz, 2H; Pro-H δ'), 2.86 (dd, J = 5.9Hz, 13.6Hz, 2H; Tyr-H β), 2.76 (dd, J = 8.2Hz, 13.6Hz, 2H; Tyr-H β), 2.65 (dd, J = 5.6Hz, 16.0Hz, 2H; Asp-H β), 2.59 (dd, J = 5.8Hz, 16.0Hz, 2H; Asp'-H β), 2.41 (ψq , J = 7.1Hz, 6H; $\text{COCH}_2\text{CH}_2\text{CO}$, Asp-H β' , Asp'-H β'), 2.35 (ψq , J = 6.7Hz, 4H;

COCH₂CH₂CO), 2.10 (m, *J* = 2 Hz; Pro-H β), 1.82 (m, 2H; Pro-H β '), 1.36 (s, 18H; ^tBu), 1.31 (s, 18H; ^tBu), 1.18 (t, *J* = 7.0 Hz, 6H; NCH₂CH₃).

¹³C NMR (125.8 MHz, d₆-DMSO, 22°C): δ = 173.9, 171.4, 170.6, 170.3, 169.7, 169.4, 169.2, 165.7, 156.9, 156.2, 151.7, 146.9, 142.8, 130.3, 129.5, 126.1, 125.0, 122.5, 114.0, 111.7, 80.2, 79.2, 65.2, 58.1, 54.2, 49.7, 49.5, 49.2, 46.8, 45.3, 37.3, 36.9, 33.3, 30.0, 29.2, 27.7, 27.6, 12.0.

MS (ESI): *m/z* (%): 1012.7 (100) [M-2H]²⁻, 2026.3 (23) [M-H]⁻.



17.1 e) Zweiarmeriger succinylierter Rezeptor 39

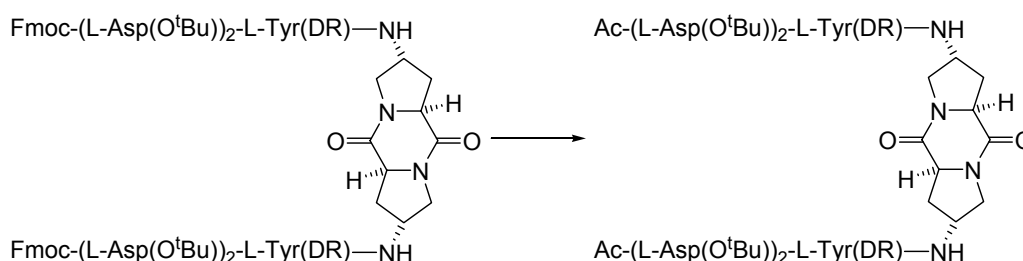
165 mg (81.3 μ mol, 1.0 eq) **76** wurden in 5 ml CH₂Cl₂ gelöst und mit 5 ml TFA versetzt. Nach 2 h wurden die flüchtigen Bestandteile am R.V. entfernt und der Rückstand fünfmal mit der minimal nötigen Menge CH₂Cl₂ gelöst und mit je 10 ml Et₂O gefällt. Man erhielt 120.7 mg (66.9 μ mol, 82%) roten Festkörper, welcher für die Titrationsexperimente mittels HPLC entsalzt und anschliessend lyophilisiert wurde.

¹H NMR (500 MHz, d₆-DMSO, 22°C): δ = 8.35 (ψ d, 4H; *J* = 9.0 Hz, DR-ar), 8.27 (d, *J* = 7.5 Hz, 2H; Asp-NH), 8.06 (d, *J* = 6.4 Hz, 2H; Pro- γ NH), 8.16 (d, *J* = 7.6 Hz, 2H; Asp'-NH), 7.93 (ψ d, 4H; *J* = 9.0 Hz, DR-ar), 7.85 (d, 4H; *J* = 9.2 Hz, DR-ar), 7.68 (d, *J* = 8.0 Hz, 2H; Tyr-NH), 7.09 (d, 4H; *J* = 8.6 Hz, Tyr-ar), 6.94 (d, 2H; *J* = 9.3 Hz, DR-ar), 6.83 (d, 4H; *J* = 8.6 Hz, Tyr-ar), 4.54 (d ψ t, *J* = 5.6 Hz, 7.7 Hz, 2H; Asp-H α), 4.46 (ψ q, *J* = 6.7 Hz, 2H; Asp'-H α), 4.30 (m, 4H; Tyr-H α , Pro-H α), 4.14 (t, *J* = 5.4 Hz, 6H; NCH₂CH₂O, Pro-H α), 3.84 (t, *J* = 5.1 Hz, 4H; NCH₂CH₂O), 3.64 (m, 4H; Pro-H δ), 3.60 (q, *J* = 7.0 Hz, 4H; NCH₂CH₃), 3.17 (br d, *J* = 9 Hz, 2H; Pro-H δ '), 2.88 (dd, *J* = 6.2 Hz, 14.6 Hz, 2H; Tyr-H β), 2.77 (dd, *J* = 8.8 Hz, 13.4 Hz, 2H; Tyr-H β '), 2.68 (dd, *J* = 16.5 Hz, 5.4 Hz, 2H; Asp-H β), 2.64 (dd, *J* = 16.8 Hz, 5.9 Hz, 2H; Asp'-H β), 2.44 (m, 8H;

COCH₂CH₂CO, Asp-Hβ', Asp'-Hβ'), 2.36 (t, *J* = 6.4Hz, 4H; COCH₂CH₂CO,), 2.14 (m, 2H; Pro-Hβ), 1.86 (m, 2H; Pro-Hβ'), 1.18 (t, *J* = 6.9Hz, 6H; NCH₂CH₃).

¹³C NMR (125.6 MHz, d₆-DMSO, 22°C): δ = 173.9, 171.9, 171.9, 171.6, 171.1, 170.3, 170.0, 165.8, 156.9, 156.2, 151.7, 146.9, 142.8, 130.3, 129.6, 126.2, 125.0, 122.5, 114.0, 111.7, 65.2, 58.1, 54.3, 50.6, 49.7, 49.6, 49.2, 46.9, 45.3, 36.7, 36.0, 35.5, 33.1, 30.0, 29.1, 12.0.

MS (ESI): *m/z* (%): 900.6 (100) [M-2H]²⁻.



17.1 f) Zweiarziger acetylierter Rezeptorvorläufer 77

25.0 mg (11.0 μmol, 1.0 eq) **75** wurden in 0.5 ml CH₂Cl₂ gelöst, mit 80 μl (550 μmol, 50 eq) TAEA versetzt, nach 2h mit 10 ml CH₂Cl₂ verdünnt und mit zweimal 10 ml 0.1M Na-Phosphat Puffer (pH 5.5) und 10 ml ges. NaCl-Lösung extrahiert. Die wässrigen Phasen wurden zweimal mit je 10 ml CH₂Cl₂ rückextrahiert, die organischen Phasen über Na₂SO₄ getrocknet und das Lösungsmittel am R.V. entfernt. Der rote Festkörper wurde in 0.5 ml CH₂Cl₂ gelöst und mit 50 μl (220 μmol, 20 eq) Ac₂O und 50 μl Et₃N (220 μmol, 20 eq) versetzt. Nach 30 min. wurde die Lösung mit 10 ml CH₂Cl₂ verdünnt und mit 10 ml 0.1M HCl, 10 ml Wasser und 10 ml ges. NaCl-Lösung extrahiert. Die wässrigen Phasen wurden zweimal mit je 10 ml CH₂Cl₂ rückextrahiert, die organischen Phasen über Na₂SO₄ getrocknet und das Lösungsmittel am R.V. entfernt. Das Produkt wurde anschliessend mittels Säulenchromatographie gereinigt, Gradient CH₂Cl₂/3%-5% MeOH.

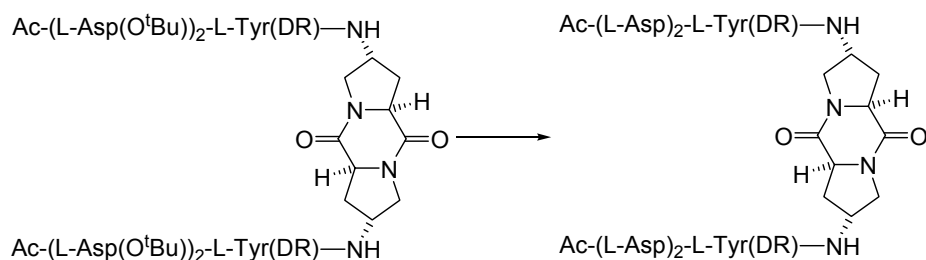
Ausbeute: 13.4 mg (7.0 μmol, 64%) roter Festkörper.

R_f: 0.4 (CH₂Cl₂/10% MeOH)

^1H NMR (500 MHz, $\text{d}_6\text{-DMSO}$, 22°C): δ = 8.35 (ψd , J = 9.1 Hz, 4H; DR-ar), 8.19 (m, 4H; Asp-NH, Pro- γNH), 8.15 (d, J = 7.9 Hz, 2H; Asp'-NH), 7.92 (ψd , J = 9.1 Hz, 4H; DR-ar), 7.84 (d, J = 9.2 Hz, 4H; DR-ar), 7.77 (d, J = 8.0 Hz, 2H; Tyr-NH), 7.09 (d, J = 8.7 Hz, 4H; Tyr-ar), 6.94 (d, J = 9.4 Hz, 4H; DR-ar), 6.83 (d, J = 8.7 Hz, 4H; Tyr-ar), 4.58 ($\text{d}\psi\text{t}$, J = 5.6 Hz, 8.3 Hz, 2H; Asp- $\text{H}\alpha$), 4.47 (ψq , J = 6.6 Hz, 2H; Asp'- $\text{H}\alpha$), 4.33 (ψq , J = 6.8 Hz, 2H; Tyr- $\text{H}\alpha$), 4.27 (t, 2H; Pro- $\text{H}\alpha$), 4.17 (m, 2H; Pro- $\text{H}\gamma$), 4.14 (t, J = 5.6 Hz, 4H; $\text{NCH}_2\text{CH}_2\text{O}$), 3.84 (t, J = 5.5 Hz, 4H; $\text{NCH}_2\text{CH}_2\text{O}$), 3.61 (m, 6H; Pro- $\text{H}\delta$, NCH_2CH_3), 3.15 (d, J = 10.8 Hz, 2H; Pro- $\text{H}\delta'$), 2.85 (dd, J = 6.0 Hz, 14.0 Hz, 2H; Tyr- $\text{H}\beta$), 2.76 (dd, J = 8.5 Hz, 13.7 Hz, 2H; Tyr- $\text{H}\beta'$), 2.63 (dd, J = 5.6 Hz, 16.0 Hz, 2H; Asp- $\text{H}\beta$), 2.59 (dd, J = 5.8 Hz, 16.1 Hz, 2H; Asp'- $\text{H}\beta$), 2.41 (dd, J = 7.8 Hz, 16.2 Hz, 2H; Asp'- $\text{H}\beta'$), 2.38 (dd, J = 8.8 Hz, 16.0 Hz, 2H; Asp- $\text{H}\beta'$), 2.11 (m, 2H; Pro- $\text{H}\beta$), 1.83 (m, 2H; Pro- $\text{H}\beta'$), 1.80 (s, 6H; COCH_3), 1.35 (s, 18H; O^tBu), 1.31 (s, 18H; O^tBu), 1.18 (t, J = 7.1 Hz, 6H; NCH_2CH_3).

^{13}C NMR (125.8 MHz, $\text{d}_6\text{-DMSO}$, 22°C): δ = 170.7, 170.3, 169.7, 169.4, 169.3, 169.2, 165.7, 156.9, 156.2, 151.6, 146.9, 142.8, 130.3, 129.5, 126.1, 125.0, 122.5, 114.0, 111.7, 80.2, 80.2, 79.2, 65.2, 58.1, 54.3, 50.4, 49.6, 49.4, 49.2, 46.8, 45.3, 37.4, 36.9, 33.2, 31.3, 27.6, 27.6, 22.5, 12.0.

MS (ESI): m/z (%): 1934.1 (100) $[\text{M-H}+\text{Na}]^-$.



17.1 g) Zweiarmer acetylierter Rezeptor 40

2 mg (1.0 μmol , 1.0 eq) **77** wurden in 0.5 ml CH_2Cl_2 gelöst und mit 0.5 ml TFA versetzt. Nach 2 h wurden die flüchtigen Bestandteile i.V. entfernt und der Rückstand fünfmal mit der minimal nötigen Menge CH_2Cl_2 gelöst und mit je 1 ml Et_2O gefällt. Man erhielt 1.2 mg (0.7 μmol , 73%) roten Festkörper, welcher für die Titrationsexperimente mittels HPLC entsalzt und anschliessend lyophilisiert wurde.

^1H NMR (500 MHz, $\text{d}_6\text{-DMSO}$, 22°C): δ = 12.34 (br s, 4H; COOH), 8.35 (ψd , J = 9.1 Hz, 4H; DR-ar), 8.24 (d, J = 7.1 Hz, 2H; Asp'-NH), 8.19 (d, J = 7.7 Hz, 2H; Asp-NH), 8.03 (d, J = 6.2 Hz, 2H; Pro- γNH), 7.93 (ψd , J = 9.1 Hz, 4H; DR-ar), 7.84 (d, J = 9.2 Hz, 4H; DR-ar), 7.71 (br s, 4H; Tyr-NH), 7.09 (d, J = 8.7 Hz, 4H; Tyr-ar), 6.94 (d, J = 9.3 Hz, 4H; DR-ar), 6.83 (d, J = 8.7 Hz, 4H; Tyr-ar), 4.54 ($\text{d}\psi\text{t}$, J = 5.5 Hz, 7.9 Hz, 2H; Asp- $\text{H}\alpha$), 4.44 (ψq , J = 6.6 Hz, 2H; Asp'- $\text{H}\alpha$), 4.32 (m, 2H; Pro- $\text{H}\alpha$), 4.29 (ψq , 2H; Tyr- $\text{H}\alpha$), 4.17 (m, 2H; Pro- $\text{H}\gamma$), 4.14 (t, J = 5.7 Hz, 4H; $\text{NCH}_2\text{CH}_2\text{O}$), 3.84 (t, J = 5.5 Hz, 4H; $\text{NCH}_2\text{CH}_2\text{O}$), 3.64 (dd, J = 5.9 Hz, 11.7 Hz, 2H; Pro- $\text{H}\delta$), 3.60 (q, J = 7.2 Hz, 4H; NCH_2CH_3), 3.17 (m, J = 5.0 Hz, 2H; Pro- $\text{H}\delta'$), 2.89 (m, J = 14.0 Hz, 2H; Tyr- $\text{H}\beta$), 2.77 (dd, J = 9.0 Hz, 14.5 Hz, 2H; Tyr- $\text{H}\beta'$), 2.65 (dd, J = 5.1 Hz, 11.2 Hz, 2H; Asp- $\text{H}\beta$), 2.62 (dd, J = 10.9 Hz, 4.9 Hz, 2H; Asp'- $\text{H}\beta$), 2.46 (m, 4H; Asp- $\text{H}\beta'$, Asp'- $\text{H}\beta'$), 2.14 (m, 2H; Pro- $\text{H}\beta$), 1.87 (m, 2H; Pro- $\text{H}\beta'$), 1.82 (s, 6H; COCH_3), 1.18 (t, J = 7.1 Hz, 6H; NCH_2CH_3).

^{13}C NMR (125.6 MHz, $\text{d}_6\text{-DMSO}$, 22°C): δ = 72.0, 171.9, 171.2, 170.4, 170.1, 169.6, 165.8, 156.9, 156.2, 151.7, 146.9, 142.8, 130.3, 129.7, 126.1, 125.0, 122.5, 114.0, 111.7, 65.2, 58.1, 54.4, 50.4, 49.8, 49.6, 49.2, 46.9, 45.3, 36.6, 36.1, 35.6, 33.1, 22.5, 12.0.

MS (ESI): m/z (%): 842.3 (100) $[\text{M}-2\text{H}]^{2-}$, 1686.2 (53) $[\text{M}-\text{H}]^-$.

17.2 Synthese des einarmigen Rezeptors

17.2 a) Boc-L-Tyr(DR)-NHPr (78)

500 mg (866 μ mol, 1.0 eq) Boc-L-Tyr(DR)-OH wurden in 5 ml CH_2Cl_2 gelöst und mit 153 mg (2.6 mmol, 3.0 eq) n-Propylamin und 662 mg (3.5 mmol, 4.0 eq) EDC versetzt. Nach 3 h wurde die Lösung mit 100 ml CH_2Cl_2 verdünnt und mit zweimal 100 ml 0.1M Na-Phosphat Puffer (pH 5.5) und 100 ml ges. NaCl-Lösung extrahiert. Die wässrigen Phasen wurden zweimal mit je 100 ml CH_2Cl_2 rückextrahiert, die organischen Phasen über Na_2SO_4 getrocknet und das Lösungsmittel am R.V. entfernt. Das Produkt wurde anschliessend mittels Säulenchromatographie gereinigt, Gradient $\text{CH}_2\text{Cl}_2/0.5\%-2 \text{ MeOH}$.

Ausbeute: 443 mg (717 μ mol, 83%) roter Festkörper.

R_f : 0.5 ($\text{CH}_2\text{Cl}_2/5\% \text{ MeOH}$)

^1H NMR (400 MHz, CDCl_3 , 25°C): δ = 8.30 (m, 2H; DR-ar), 7.90 (m, 4H; DR-ar), 7.11 (d, J = 8.5Hz, 2H; Tyr-ar), 6.81 (m, 4H; ar), 5.84 (br, 1H; NHPr), 5.10 (br, 1H; Tyr-NH), 4.22 (ψ q, J = 7.0Hz, 1H; Tyr- H_α), 4.15 (t, J = 5.9 Hz, 2H; $\text{OCH}_2\text{CH}_2\text{N}$), 3.84 (t, J = 5.8Hz, 2H; $\text{OCH}_2\text{CH}_2\text{N}$), 3.60 (q, J = 7.1Hz, 2H; NCH_2CH_3), 3.11 (ψ q, J = 6.4Hz, $\text{NHCH}_2\text{CH}_2\text{CH}_3$), 2.98 (m, 2H; Tyr- H_β), 1.40 (m, 11H; ^tBu , $\text{NHCH}_2\text{CH}_2\text{CH}_3$), 1.28 (t, J = 7.0Hz, 3H; NHCH_2CH_3), 0.80 (t, J = 7.3Hz, 3H; $\text{NHCH}_2\text{CH}_2\text{CH}_3$).

^{13}C NMR (100.6 MHz, CDCl_3 , 25°C): δ = 171.5, 157.9, 157.2, 151.6, 147.8, 144.1, 130.9, 129.8, 126.7, 125.1, 123.0, 114.9, 111.8, 65.8, 50.3, 46.6, 41.5, 38.2, 28.7, 23.0, 12.7, 11.7.

MS (ESI): m/z (%): 641.1 (100) $[\text{M}+\text{Na}]^+$, 619.2 (53) $[\text{M}+\text{H}]^+$.

17.2 b) Fmoc-L-Asp(O^tBu)-L-Tyr(DR)-NHPr (79)

400 mg (647 μ mol, 1.0 eq) **78** wurden in 5 ml CH₂Cl₂ und 5 ml TFA gelöst. Flüchtige Bestandteile wurde nach 30 min. i.V. entfernt und der Rückstand dreimal mit je 10 ml Et₂O gefällt und in 7 ml CH₂Cl₂ und 221 μ l Hünig-Base (1.29 mmol, 2.0 eq) gelöst und mit 532 mg (1.29 mmol, 2.0 eq) Fmoc-L-Asp(O^tBu)-OH und 370 mg (1.93 mmol, 3.0 eq) EDC versetzt. Nach 45 min. wurde die entstandene Suspension mit 100 ml CH₂Cl₂ verdünnt und mit 2 x 100 ml 0.1M Na-Phosphat Puffer (pH 5.5) und 100 ml ges. NaCl-Lösung extrahiert. Die wässrigen Phasen wurden mit 2 x 100 ml CH₂Cl₂ rückextrahiert, die org. Phasen über Na₂SO₄ getrocknet, mit Celite versetzt und das Lösungsmittel am R.V. entfernt. Das Produkt wurde anschliessend mittels Säulenchromatographie gereinigt, Gradient CH₂Cl₂/0.5%-1.5 MeOH.

Ausbeute: 484 mg (531 μ mol, 82%) roter Festkörper.

R_f: 0.4 (CH₂Cl₂/5% MeOH)

¹H NMR (500 MHz, CDCl₃, 22 °C): δ = 8.31 (ψ d, J = 9.1Hz, 2H; DR-ar), 7.91 (ψ d, J = 9.1 Hz, 2H; DR-ar), 7.86 (d, J = 9.1Hz, 2H; Tyr-ar), 7.76 (d, J = 7.6Hz, 2H; Fmoc-ar), 7.56 (d, br, J = 5.7Hz, 2H; Fmoc-ar), 7.40 (ψ t, J = 7.5Hz, 2H; Fmoc-ar), 7.31 (ψ t, J = 7.5Hz, 2H; Fmoc-ar), 7.12 (d, J = 8.3Hz, 2H; Tyr-ar), 6.76 (m, 5H; Tyr-ar, DR-ar, Tyr-NH), 6.16 (br, 1H; NHPr), 5.77 (d, J = 8.3Hz, 1H; Asp-NH), 4.55 (ψ q, J = 7.2Hz, 1H; Tyr-H α), 4.43 (ψ q, J = 7.0Hz, 1H; Asp-H α), 4.36 (d, J = 7.2Hz, 2H; Fmoc-CH₂), 4.18 (d, J = 7.0Hz, 1H; Fmoc-CH), 4.03 (t, J = 5.5 Hz, 2H; OCH₂CH₂N), 3.72 (t, J = 5.3Hz, 2H; OCH₂CH₂N), 3.52 (q, J = 7.0Hz, 2H; NCH₂CH₃), 3.12 (m, 3H; Tyr-H β , NHCH₂CH₂CH₃), 2.99 (dd, J = 6.8Hz, 13.9Hz, 1H; Tyr-H β '), 2.79 (dd, J = 4.4Hz, 16.7Hz, 1H; Asp-H β), 2.71 (dd, J = 6.9Hz, 16.9Hz, 1H; Asp-H β '), 1.42 (m, 11H; ^tBu, NHCH₂CH₂CH₃), 1.22 (t, J = 7.0Hz, 3H; NHCH₂CH₃), 0.81 (t, J = 7.4Hz, 3H; NHCH₂CH₂CH₃).

¹³C NMR (125.6 MHz, CDCl₃, 22 °C): δ = 170.8, 170.3, 170.0, 157.4, 156.7, 156.0, 151.2, 147.3, 143.7, 143.5, 141.3, 141.2, 130.4, 129.0, 127.8, 127.1, 126.2, 125.0, 124.6, 122.6, 120.0, 114.5, 111.3, 82.0, 67.3, 65.2, 54.6, 51.4, 49.7, 47.0, 46.0, 41.3, 37.0, 36.7, 28.0, 22.5, 12.2, 11.3.

MS (ESI): m/z (%): 934.1 (100) [M+Na]⁺.

17.2 c) Fmoc-L-Asp(O^tBu)-L-Asp(O^tBu)-L-Tyr(DR)-NHPr (80)

450 mg (493 μ mol, 1.0 eq) **79** wurden in 7.5 ml CH₂Cl₂ gelöst und mit 3.7 ml TAEA versetzt. Die Lösung wurde nach 30 min. mit 100 ml CH₂Cl₂ verdünnt und mit zweimal 100 ml 0.1M Na-Phosphat Puffer (pH 5.5) und 100 ml ges. NaCl-Lösung extrahiert. Die wässrigen Phasen wurden zweimal mit je 100 ml CH₂Cl₂ rückextrahiert, die organischen Phasen über Na₂SO₄ getrocknet und das Lösungsmittel am R.V. entfernt. Der Rückstand wurde mit 7.5 ml CH₂Cl₂ gelöst und mit 406 mg (987 μ mol, 2.0 eq) Fmoc-L-Asp(O^tBu)-OH und 282 mg (1.48 mmol, 3.0 eq) EDC versetzt. Nach 45 min. wurde die entstandene Suspension mit 100 ml CH₂Cl₂ verdünnt und mit zweimal 100 ml 0.1M Na-Phosphat Puffer (pH 5.5) und 100 ml ges. NaCl-Lösung extrahiert. Die wässrigen Phasen wurden zweimal mit je 100 ml CH₂Cl₂ rückextrahiert, die organischen Phasen über Na₂SO₄ getrocknet, mit Celite versetzt und das Lösungsmittel am R.V. entfernt. Das Produkt wurde anschliessend mittels Säulenchromatographie gereinigt, Gradient CH₂Cl₂/0.5%-1.2 MeOH.

Ausbeute: 529 mg (493 μ mol, quant.) roter Festkörper.

R_f: 0.4 (CH₂Cl₂/5% MeOH)

¹H NMR (500 MHz, CDCl₃, 22 °C): δ = 8.31 (ψ d, J = 9.1Hz, 2H; DR-ar), 7.90 (m, 4H; DR-ar), 7.76 (d, J = 7.6Hz, 2H; Fmoc-ar), 7.56 (d, J = 7.4Hz, 2H; Fmoc-ar), 7.39 (m, 3H; Fmoc-ar, Asp-NH), 7.30 (m, 2H; Fmoc-ar), 7.12 (d, J = 8.6Hz, 2H; Tyr-ar), 7.02 (d, J = 8.1Hz, 1H; Tyr-NH), 6.79 (m, 4H; DR-ar, Tyr-ar), 6.31 (t, J = 4.9Hz, 1H; NHPr), 5.79 (d, J = 8.1Hz, 1H; Asp'-NH), 4.59 (d ψ t, J = 5.1Hz, 6.5Hz, 1H; Asp-H α), 4.54 (ψ q, J = 6.1Hz, 1H; Tyr-H α), 4.40 (m, 3H; Asp'-H α , Fmoc-CH₂), 4.22 (t, J = 7.0Hz, 1H; Fmoc-CH), 4.11 (t, J = 4.9 Hz, 2H; OCH₂CH₂N), 3.81 (t, J = 5.5Hz, 2H; OCH₂CH₂N), 3.59 (q, J = 7.1Hz, 2H; NCH₂CH₃), 3.13 (m, 3H; Tyr-H β , NHCH₂CH₂CH₃), 3.00 (dd, J = 8.0Hz, 14.2Hz, 1H; Tyr-H β '), 2.79 (dd, J = 4.4Hz, 16.5Hz, 1H; Asp'-H β), 2.76 (dd, J = 4.7Hz, 17.0Hz, 1H; Asp-H β), 2.68 (dd, J = 6.7Hz, 17.1Hz, 1H; Asp'-H β '), 2.64 (dd, J = 6.5Hz, 16.9Hz, 1H; Asp-H β '), 1.44 (m, 11H; ^tBu, NHCH₂CH₂CH₃), 1.34 (s, 9H; ^tBu), 1.26 (t, J = 7.1Hz, 3H; NHCH₂CH₃), 0.83 (t, J = 7.4Hz, 3H; NHCH₂CH₂CH₃).

¹³C NMR (125.6 MHz, CDCl₃, 22 °C): δ = 170.9, 170.9, 170.7, 170.2, 169.9, 157.3, 156.7, 156.1, 151.2, 147.3, 143.7, 143.6, 143.5, 141.3, 130.3, 129.7, 127.8, 127.1,

126.2, 125.0, 124.9, 124.6, 122.6, 120.0, 114.4, 111.3, 82.3, 82.0, 67.5, 67.5, 65.2, 54.9, 51.5, 50.1, 49.8, 47.0, 46.1, 41.3, 36.9, 36.2, 36.0, 28.0, 27.9, 27.9, 22.5, 12.2, 11.3.

MS (ESI): m/z (%): 1105.1 (100) $[M+Na]^+$, 1083.2 (52) $[M+H]^+$, 1121.1 (14) $[M+K]^+$.

17.2 d) H-L-Asp(O^tBu)-L-Asp(O^tBu)-L-Tyr(DR)-NHPr (81)

100 mg (92.4 μ mol, 1.0 eq) **80** wurden in 1.0 ml CH₂Cl₂ gelöst und mit 660 μ l TAEA versetzt. Die Lösung wurde nach 45 min. mit 40 ml CH₂Cl₂ verdünnt und mit zweimal 25 ml 0.1M Na-Phosphat Puffer (pH 5.5) und 25 ml ges. NaCl-Lösung extrahiert. Die wässrigen Phasen wurden zweimal mit je 25 ml CH₂Cl₂ rückextrahiert, die organischen Phasen über Na₂SO₄ getrocknet und das Lösungsmittel am R.V. entfernt. Der Rückstand wurde anschliessend mittels Säulenchromatographie gereinigt, CH₂Cl₂ / 3% MeOH.

Ausbeute: 56 mg (64.7 μ mol, 70%) roter Festkörper.

¹H NMR (500 MHz, CDCl₃, 22°C): δ = 8.30 (m, 2H; DR-ar), 8.04 (d, J = 8.3 Hz, 1H; Asp-NH), 7.89 (m, 4H; DR-ar), 7.12 (m, 2H; Tyr-ar), 6.85 (d, J = 8.1 Hz, 1H; Tyr-NH), 6.79 (m, 4H; Tyr-ar, DR-ar), 6.35 (t, J = 5.7 Hz, 1H; NHCH₂CH₂CH₃), 4.57 (ddd, J = 6.0 Hz, 6.1 Hz, 8.3 Hz, 1H; Asp-H α), 4.53 (ddd, J = 7.1 Hz, 7.9 Hz, 7.0 Hz, 1H; Tyr-H α), 4.14 (t, J = 5.9 Hz, 2H; OCH₂CH₂N), 3.83 (t, J = 5.7 Hz, 2H; OCH₂CH₂N), 3.61 (q, J = 7.1 Hz, 2H; NCH₂CH₃), 3.47 (dd, J = 4.4 Hz, 7.5 Hz, 1H; Asp'-H α), 3.17-3.03 (m, 4H; 2 Tyr-H β , 2 NHCH₂CH₂CH₃), 2.72 (dd, J = 4.4 Hz, 16.7 Hz, 1H; Asp'-H β), 2.77 (d, J = 6.1 Hz, 2H; Asp-H β), 2.52 (dd, J = 16.7 Hz, 7.5 Hz, 1H; Asp'-H β), 1.42 (m, 11H; 9 ^tBu, 2 NHCH₂CH₂CH₃), 1.39 (s, 9H; ^tBu), 1.27 (t, J = 7.1 Hz, 3H; NCH₂CH₃), 0.81 (t, J = 7.4 Hz, 3H; NHCH₂CH₂CH₃).

¹³C NMR (125.8 MHz, CDCl₃, 22°C): δ = 174.1, 170.9, 170.6, 170.2, 170.1, 157.3, 156.7, 151.2, 147.3, 143.6, 130.4, 123.4, 126.2, 124.6, 122.5, 114.3, 111.3, 81.7, 81.3, 65.3, 54.6, 51.8, 49.8, 49.6, 46.1, 41.2, 40.1, 36.3, 28.0, 27.9, 22.5, 12.2, 11.2.

MS (ESI): m/z (%): 861.2 (34) $[M+H]^+$, 883.2 (100) $[M+Na]^+$.

17.2 e) Suc-L-Asp(O^tBu)-L-Asp(O^tBu)-L-Tyr(DR)-NHPr (82)

250 mg (231 μ mol, 1.0 eq) **81** wurden in 2.0 ml CH₂Cl₂ gelöst, mit 1.72 ml (11.5 mmol, 50 eq) TAEA versetzt, nach 80 min. mit 100 ml CH₂Cl₂ verdünnt und mit 2 x 100 ml 0.1M Na-Phosphat Puffer (pH 5.5) und 100 ml ges. NaCl-Lösung extrahiert. Die wässrigen Phasen wurden mit 2 x 100 ml CH₂Cl₂ rückextrahiert, die org. Phasen über Na₂SO₄ getrocknet und das Lösungsmittel am R.V. entfernt. Der rote Festkörper wurde in 5 ml CH₂Cl₂ gelöst und mit 460 mg (4.6 mmol, 20 eq) Bernsteinsäureanhydrid versetzt. Nach 3 h wurde die Lösung mit 100 ml CH₂Cl₂ verdünnt und mit 2 x 100 ml 0.1M Na-Phosphat Puffer (pH 5.5) und 100 ml ges. NaCl-Lösung extrahiert. Die wässrigen Phasen wurden mit 2 x 100 ml CH₂Cl₂ rückextrahiert, die org. Phasen über Na₂SO₄ getrocknet und das Lösungsmittel am R.V. entfernt. Das Produkt wurde mittels Säulenchromatographie gereinigt, Gradient CH₂Cl₂/1-2% MeOH.

Ausbeute: 143 mg (150 μ mol, 65%) roter Festkörper.

R_f: 0.4 (CH₂Cl₂/6% MeOH/4% AcOH)

¹H NMR (500 MHz, d₆-DMSO, 22 °C): δ = 8.38 (ψ d, J = 9.0Hz, 2H; DR-ar), 8.26 (d, J = 8.1Hz, 1H; Asp-NH), 8.12 (br, 1H; Asp'-NH), 7.93 (m, 2H; DR-ar), 7.73 (m, 2H; Tyr-NH; NHPr), 7.01 (d, J = 8.7Hz, 2H; Tyr-ar), 6.94 (d, J = 9.3Hz, 2H; DR-ar), 6.83 (d, J = 8.7Hz, 2H; Tyr-ar), 4.58 (dd, J = 8.5Hz, 5.8Hz, 1H; Asp-H α), 4.47 (dd, J = 6.3Hz, 7.4Hz, 1H; Asp'-H α), 4.31 (dd, 1H; Tyr-H α), 4.15 (t, J = 5.6 Hz, 2H; OCH₂CH₂N), 3.85 (t, J = 5.3Hz, 2H; OCH₂CH₂N), 3.61 (q, J = 7.1Hz, 2H; NCH₂CH₃), 2.93 (m, 3H; Tyr-H β , NHCH₂CH₂CH₃), 2.73 (dd, J = 8.6Hz, 13.8Hz, 1H; Tyr-H β '), 2.65 (dd, J = 5.7Hz, 16.0Hz, 1H; Asp-H β), 2.60 (dd, J = 6.2Hz, 16.3Hz, 1H; Asp'-H β), 2.33 (m, 6H; Asp-H β ', Asp'-H β ', COCH₂CH₂CO), 1.36 (s, 9H; ^tBu), 1.33 (m, 11H; ^tBu, NHCH₂CH₂CH₃), 1.19 (t, J = 6.9Hz, 3H; NHCH₂CH₃), 0.74 (t, J = 7.4Hz, 3H; NHCH₂CH₂CH₃).

¹³C NMR (125.6 MHz, d₆-DMSO, 22 °C): δ = 173.8, 171.2, 170.5, 170.1, 169.6, 169.5, 169.3, 156.9, 156.2, 151.6, 146.9, 142.8, 130.2, 129.9, 126.1, 125.0, 122.5, 114.0, 111.7, 80.3, 65.3, 54.3, 49.6, 49.4, 49.2, 45.4, 40.2, 37.3, 36.8, 36.7, 30.0, 29.9, 29.1, 27.7, 27.6, 22.1, 12.1, 11.3.

MS (ESI): m/z (%): 959.3 (100) [M-H]⁻.

17.2 f) Suc-L-Asp-L-Asp-L-Tyr(DR)-NHPr (41)

130 mg (135 μ mol, 1.0 eq) **82** wurden in 5 ml CH_2Cl_2 gelöst und mit 5 ml TFA versetzt. Nach 2 h wurden die flüchtigen Bestandteile am R.V. entfernt und der Rückstand fünfmal mit der minimal nötigen Menge CH_2Cl_2 gelöst und mit je 10 ml Et_2O gefällt. Man erhielt 96.5 mg (107 μ mol, 79%) roten Festkörper, welcher für die Titrationsexperimente mittels HPLC entsalzt und anschliessend lyophilisiert wurde.

^1H NMR (500 MHz, d_6 -DMSO, 22°C): δ = 8.35 (ψ d, 2H; J = 9.1Hz, ar), 8.28 (d, J = 7.6Hz, 1H; Asp-NH), 8.15 (d, J = 7.8Hz, 1H; Asp'-NH), 7.93 (ψ d, 2H; J = 9.1Hz, ar), 7.84 (ψ d, 2H; J = 9.2Hz, ar), 7.67 (d, J = 8.4Hz, 1H; Tyr-NH), 7.60 (t, J = 5.6Hz, NHPr), 7.07 (ψ d, 2H; J = 6.6Hz, ar), 6.94 (ψ d, 2H; J = 9.3Hz, ar), 6.82 (ψ d, 2H; J = 8.7Hz, ar), 4.53 ($\text{d}\psi\text{t}$, J = 5.6Hz, 7.8Hz, 1H; Asp- H_α), 4.43 (ψ q, J = 7.2Hz, 1H; Asp'- H_α), 4.26 ($\text{d}\psi\text{t}$, J = 5.4Hz, 8.4Hz, 1H; Tyr- H_α), 4.14 (t, J = 5.6Hz, 2H; $\text{NCH}_2\text{CH}_2\text{O}$), 3.84 (t, J = 5.3Hz, 2H; $\text{NCH}_2\text{CH}_2\text{O}$), 3.60 (q, J = 7.0Hz, 2H; NCH_2CH_3), 2.98 (m, 2H; $\text{NCH}_2\text{CH}_2\text{CH}_3$), 2.91 (m, 1H; Tyr- H_β), 2.72 (dd, J = 14.0Hz, 8.9Hz, 1H; Tyr- $H_{\beta'}$), 2.66 (dd, J = 16.7Hz, 5.4Hz, 1H; Asp- H_β), 2.61 (dd, J = 16.6Hz, 6.1Hz, 1H; Asp'- H_β), 2.46 (m, 2H; Asp- $H_{\beta'}$, Asp'- $H_{\beta'}$), 2.43 (t, J = 7.3Hz, 2H; $\text{COCH}_2\text{CH}_2\text{CO}$), 2.35 (t, J = 6.5Hz, 2H; $\text{COCH}_2\text{CH}_2\text{CO}$), 1.33 (ddq, J = 1.9Hz, 7.3Hz, 7.4Hz, 2H; $\text{NCH}_2\text{CH}_2\text{CH}_3$), 1.18 (t, J = 7.0Hz, 3H; NCH_2CH_3), 0.75 (t, J = 7.5Hz, 3H; $\text{NCH}_2\text{CH}_2\text{CH}_3$).

^{13}C NMR (125.6 MHz, d_6 -DMSO, 22°C): δ = 173.9, 171.9, 171.6, 171.1, 170.2, 169.9, 156.8, 156.2, 151.7, 146.9, 142.8, 130.2, 130.0, 126.1, 125.0, 122.5, 114.0, 111.7, 65.3, 54.5, 49.8, 49.6, 49.2, 45.4, 40.4, 36.6, 36.0, 35.5, 30.0, 29.1, 22.1, 12.1, 11.3.

MS (ESI): m/z (%): 847.2 (100) $[\text{M-H}]^-$.

18. Synthese der argininreichen Peptide

18. a) Ac-L-Arg-L-Arg-L-Arg-NHPr (56)

Die Synthese von **56** erfolgte analog zu **10**.

Ac-L-Arg(Pbf)-L-Arg(Pbf)-L-Arg(Pbf)-NHPr (56 geschützt)

^1H NMR (500 MHz, d_6 -DMSO, 22°C): δ = 8.03 (d, J = 7.8 Hz, 1H; Arg-NH), 8.00 (d, J = 7.4 Hz, 1H; Arg-NH), 7.88 (m, 2H; Arg-NH; $\text{NHCH}_2\text{CH}_2\text{CH}_3$), 4.18 (m, 3H; Arg- H_α), 3.10 (m, 8H; $\text{NHCH}_2\text{CH}_2\text{CH}_3$, Arg- H_δ), 2.96 (s, 6H; Pbf), 2.47 (s, 9H; Pbf), 2.42 (s, 9H; Pbf), 2.00 (s, 9H; Pbf), 1.83 (s, 3H; COCH_3), 1.61 (m, 3H; Arg- H_β), 1.51-1.32 (m, 29H; Arg- H_β , Arg- H_γ , $\text{NHCH}_2\text{CH}_2\text{CH}_3$, Pbf), 0.80 (t, J = 7.4 Hz, 3H; $\text{NHCH}_2\text{CH}_2\text{CH}_3$).

^{13}C NMR (125.8 MHz, d_6 -DMSO, 22°C): δ = 171.7, 171.0, 170.9, 169.4, 157.3, 155.9, 137.2, 134.0, 131.3, 124.2, 116.2, 86.2, 54.8, 52.2, 52.1, 42.3, 40.1, 29.5, 29.1, 28.2, 25.3, 22.3, 22.1, 18.9, 17.5, 12.2, 11.2.

MS (ESI): m/z (%): 1325.0 (100) $[M-\text{H}]^-$.

Ac-L-Arg-L-Arg-L-Arg-NHPr (56)

^1H NMR (500 MHz, d_6 -DMSO, 22°C): δ = 8.63 (br, 1H; Arg-NH), 8.23 (d, J = 7.8 Hz, 1H; Arg-NH), 7.87 (d, J = 7.8 Hz, 1H; Arg-NH), 7.58 (br, 1H; $\text{NHCH}_2\text{CH}_2\text{CH}_3$), 4.24 (m, 1H; Arg- H_α), 4.15-4.04 (m, 2H; 2 Arg- H_α), 3.15-2.91 (m, 8H; 6 Arg- H_δ , 2 $\text{NHCH}_2\text{CH}_2\text{CH}_3$), 1.87 (s, 3H; COCH_3), 1.86-1.34 (m, 14H; 6 Arg- H_β , 6 Arg- H_γ , $\text{NHCH}_2\text{CH}_2\text{CH}_3$), 0.81 (t, J = 7.4 Hz, 3H; $\text{NHCH}_2\text{CH}_2\text{CH}_3$).

^{13}C NMR (125.8 MHz, d_6 -DMSO, 22°C): δ = 172.6, 171.9, 171.0, 169.8, 156.8, 156.7, 54.9, 53.6, 52.3, 52.0, 40.5, 40.4, 40.3, 29.1, 28.1, 28.0, 24.7, 24.6, 22.5, 22.3, 11.3.

MS (ESI): m/z (%): 570.6 (100) $[M+\text{H}]^+$.

18. b) Ac-L-Arg-L-Arg-L-Ser-NHPr (57)

Die Synthese von **57** erfolgte analog zu **10**.

Ac-L-Arg(Pbf)-L-Arg(Pbf)-L-Ser(^tBu)-NHPr (57 geschützt)

¹H NMR (500 MHz, d₆-DMSO, 22°C): δ = 8.08 (d, J = 7.8 Hz, 1H; Arg-NH), 8.02 (d, J = 8.0 Hz, 1H; Arg-NH), 7.78 (t, J = 5.5 Hz, 1H; NHCH₂CH₂CH₃), 7.67 (d, J = 7.6 Hz, 1H; Ser-NH), 4.23 (m, 3H; 2 Arg-H α , Ser-H α), 3.43 (dd, J = 5.5 Hz, 9.0 Hz, 1H; Ser-H β), 3.38 (dd, J = 6.0 Hz, 9.0 Hz, 1H; Ser-H β), 3.01 (m, 6H; NHCH₂CH₂CH₃, 4 Arg-H δ), 2.98 (s, 4H; Pbf), 2.47 (s, 6H; Pbf), 2.42 (s, 6H; Pbf), 2.00 (s, 6H; Pbf), 1.84 (s, 3H; COCH₃), 1.62 (m, 2H; Arg-H β), 1.53-1.34 (m, 26H; 2 Arg-H β , 4 Arg-H γ , 2 NHCH₂CH₂CH₃, 12 Pbf), 1.06 (s, 9H; C(CH₃)₃), 0.81 (t, J = 7.4 Hz, 3H; NHCH₂CH₂CH₃).

¹³C NMR (125.8 MHz, d₆-DMSO, 22°C): δ = 171.9, 171.1, 169.4, 169.3, 157.4, 156.0, 137.3, 134.2, 131.4, 124.3, 116.3, 86.3, 72.7, 61.7, 53.3, 52.2, 42.5, 40.3, 29.4, 29.0, 28.3, 27.2, 25.5, 22.5, 22.2, 19.0, 17.6, 12.3, 11.3.

MS (ESI): m/z (%): 1059.8 (100) [$M-H$]⁻.

Ac-L-Arg-L-Arg-L-Ser-NHPr (57)

¹H NMR (500 MHz, d₆-DMSO, 22°C): δ = 8.32-8.23 (m, 2H; 2 Arg-NH), 7.93 (d, J = 7.1 Hz, 1H; Ser-NH), 7.69 (t, J = 5.6 Hz, 1H; NHCH₂CH₂CH₃), 4.23 (m, 3H; 2 Arg-H α , Ser-H α), 3.66 (m, 1H; Ser-H β), 3.56 (dd, J = 5.6 Hz, 10.8 Hz, 1H; Ser-H β), 3.08 (m, 4H; Arg-H δ), 3.00 (m, 2H; NHCH₂CH₂CH₃), 1.86 (s, 3H; COCH₃), 1.71 (m, 2H; Arg-H β), 1.61 (m, 2H; Arg-H β), 1.49 (m, 4H; Arg-H γ), 1.39 (m, 2H; NHCH₂CH₂CH₃), 0.82 (t, J = 7.4 Hz, 3H; NHCH₂CH₂CH₃).

¹³C NMR (125.8 MHz, d₆-DMSO, 22°C): δ = 172.0, 171.6, 170.0, 169.6, 156.7, 156.6, 61.6, 55.4, 52.5, 48.6, 40.5, 40.4, 28.7, 28.6, 28.4, 24.8, 24.7, 22.5, 22.2, 11.4.

MS (ESI): m/z (%): 251.2 (53) [$M+2H$]²⁺, 501.2 (24) [$M+H$]⁺, 523.4 (62) [$M+Na$]⁺

18. c) Ac-L-Arg-L-Ser-L-Arg-NHPr (58)

Die Synthese von **58** erfolgte analog zu **10**.

Ac-L-Arg(Pbf)-L-Ser(^tBu)-L-Arg(Pbf)-NHPr (58 geschützt)

¹H NMR (500 MHz, d₆-DMSO, 22°C): δ = 8.10 (d, J = 7.8 Hz, 1H; Arg-NH), 7.85 (d, J = 7.6 Hz, 1H; Ser-NH), 7.73 (m, 2H; Arg-NH; NHCH₂CH₂CH₃), 4.26 (m, 2H; Arg-H α , Ser-H α), 4.20 (m, 1H; Arg-H α), 3.51 (dd, J = 5.2 Hz, 9.2 Hz, 1H; Ser-H β), 3.41 (dd, J = 5.6 Hz, 9.2 Hz, 1H; Ser-H β), 3.00 (m, 6H; NHCH₂CH₂CH₃, 4 Arg-H δ), 2.96 (s, 4H; Pbf), 2.48 (s, 3H; Pbf), 2.47 (s, 3H; Pbf), 2.42 (s, 6H; Pbf), 2.00 (s, 6H; Pbf), 1.84 (s, 3H; COCH₃), 1.63 (m, 2H; Arg-H β), 1.50-1.33 (m, 26H; 2 Arg-H β , 4 Arg-H γ , 2 NHCH₂CH₂CH₃, 12 Pbf), 1.09 (s, 9H; C(CH₃)₃), 0.80 (t, J = 7.4 Hz, 3H; NHCH₂CH₂CH₃).

¹³C NMR (125.8 MHz, d₆-DMSO, 22°C): δ = 171.8, 170.8, 196.6, 169.3, 157.4, 156.0, 137.3, 131.4, 124.3, 116.2, 86.3, 72.9, 61.6, 53.4, 52.3, 52.2, 42.5, 40.2, 29.6, 29.0, 28.3, 27.1, 25.4, 22.4, 22.2, 19.0, 17.6, 12.3, 11.3.

MS (ESI): m/z (%): 1059.7 (100) [$M-H$]⁻.

Ac-L-Arg-L-Ser-L-Arg-NHPr (58)

¹H NMR (500 MHz, d₆-DMSO, 22°C): δ = 8.12 (d, J = 7.9 Hz, 1H; Ser-NH), 8.10 (d, J = 7.3 Hz, 1H; Arg-NH), 8.05 (d, J = 7.9 Hz, 1H; Arg-NH), 7.75 (t, J = 5.6 Hz, 1H; NHCH₂CH₂CH₃), 4.28 (m, 2H; Arg-H α , Ser-H α), 4.16 (dt, J = 4.7 Hz, 8.5 Hz, 1H; Arg-H α), 3.67 (dd, J = 5.9 Hz, 10.5 Hz, 1H; Ser-H β), 3.55 (dd, J = 5.9 Hz, 8.4 Hz, 1H; Ser-H β), 3.07 (m, 4H; 4 Arg-H δ), 2.99 (m, 2H; NHCH₂CH₂CH₃), 1.87 (s, 3H; COCH₃), 1.72 (m, 2H; Arg-H β), 1.60-1.33 (m, 8H; 2 Arg-H β , 4 Arg-H γ , NHCH₂CH₂CH₃), 0.82 (t, J = 7.4 Hz, 3H; NHCH₂CH₂CH₃).

¹³C NMR (125.8 MHz, d₆-DMSO, 22°C): δ = 171.9, 171.0, 170.1, 169.7, 156.6, 61.6, 55.3, 52.6, 52.1, 40.5, 40.4, 40.3, 28.8, 25.0, 24.9, 22.5, 22.2, 11.3.

MS (ESI): m/z (%): 251.3 (46.3) [$M+2H$]²⁺, 501.4 (19.9) [$M+H$]⁺, 523.4 (46.1) [$M+Na$]⁺

19. Isothermische Kalorimetrie

19. a) Bindungsaffinität zwischen Rezeptor 39 und Peptid 56

Die Messzelle des VP-ITC Titrationsmikrokalorimeters wurde mit 1.42 ml einer Lösung (200 μ M) von 720 μ g HPLC-gereinigtem **39** in 2.0 ml Tris·HCl Puffer (100 mM, pH 8.0) befüllt. Nach Equilibrierung der Messzelle auf 25.0°C wurden unter Rühren alle 5 min. 5 μ l Aliquote einer 8 mM Lösung von **56** in 300 μ l Tris·HCl Puffer (100 mM, pH 8.0) zutitriert. Die während der Titration entstehenden Wärmeflüsse wurden aufgezeichnet, integriert und anschliessend mittels „least square fitting“ analysiert. Dazu wurde die von Microcal mitgelieferte Software basierend auf Origin[®] verwendet.

19. b) Bindungsaffinität zwischen Rezeptor 39 und Peptid 57

Die Messung und Analyse wurde analog zu 19. a) durchgeführt, wobei 60 5 μ l Aliquote einer 5 mM Lösung von **57** in 300 μ l Tris·HCl Puffer (100 mM, pH 8.0) zu 1.42 ml einer 140 μ M Lösung von **39** in Tris·HCl Puffer (100 mM, pH 8.0) titriert wurden.

19. c) Bindungsaffinität zwischen Rezeptor 39 und Peptid 58

Die Messung und Analyse wurde analog zu 19. a) durchgeführt, wobei 60 5 μ l Aliquote einer 5 mM Lösung von **58** in 300 μ l Tris·HCl Puffer (100 mM, pH 8.0) zu 1.42 ml einer 140 μ M Lösung von **39** in Tris·HCl Puffer (100 mM, pH 8.0) titriert wurden.

19. d) Bindungsaffinität zwischen Rezeptor 41 und Peptid 56

Die Messung und Analyse wurde analog zu 19. a) durchgeführt, wobei 60 5 μ l Aliquote einer 5 mM Lösung von **56** in 300 μ l Tris·HCl Puffer (100 mM, pH 8.0) zu 1.42 ml einer 115 μ M Lösung von **41** in Tris·HCl Puffer (100 mM, pH 8.0) titriert wurden.

19. e) Bindungsaffinität zwischen Rezeptor 41 und Peptid 57

Die Messung und Analyse wurde analog zu 19. a) durchgeführt, wobei 60 5 μ l Aliquote einer 5 mM Lösung von **57** in 300 μ l Tris·HCl Puffer (100 mM, pH 8.0) zu 1.42 ml einer 115 μ M Lösung von **41** in Tris·HCl Puffer (100 mM, pH 8.0) titriert wurden.

19. f) Bindungsaffinität zwischen Rezeptor 41 und Peptid 58

Die Messung und Analyse wurde analog zu 19. a) durchgeführt, wobei 60 5 μ l Aliquote einer 5 mM Lösung von **58** in 300 μ l Tris·HCl Puffer (100 mM, pH 8.0) zu 1.42 ml einer 115 μ M Lösung von **41** in Tris·HCl Puffer (100 mM, pH 8.0) titriert wurden.

D Abkürzungsverzeichnis

Abs	Absorbtion
γ Abu	4-Aminobuttersäure
AcOH	Essigsäure
ϵ Ahx	6-Aminocaprinsäure
Aib	2-Aminoisobuttersäure
Alloc	Allyloxycarbonyl
Boc	<i>tert.</i> -Butyloxycarbonyl
BSA	<i>N,O</i> -Bis(trimethylsilyl)acetamid
CAN	Cer-Ammoniumnitrat
CDCl ₃	deutერიertes Chloroform
CH ₂ Cl ₂	Dichlormethan
<i>c</i> -Hex	<i>cyclo</i> -Hexyl
DC	Dünnschichtchromatographie
DIC	Diisopropylcarbodiimid
DNS	Deoxyribonucleinsäure
DMF	<i>N,N</i> -Dimethylformamid
DMSO	Dimethylsulfoxid
DR	Dispers-Rot I
ECD	Elektroneneinfangdetektion
ee	Enantiomerenüberschuss (enantiomeric excess)
eq	Equivalent
ESI	Elektrosprayionisation
Et ₃ N	Triethylamin
Et ₂ O	Diethylether
Fmoc	9-Fluorenylmethoxycarbonyl
GC	Gaschromatographie
HATU	<i>N</i> -[(Dimethylamino)-1 <i>H</i> -1,2,3,-triazolo[4,5- <i>b</i>]pyridin-1-ylmethylene]- <i>N</i> -methylmethanaminium Hexafluorophosphat <i>N</i> -oxid
HOBt	1-Hydroxybenzotriazol
HPLC	High Performance Liquid Chromatography

Hünig-Base	<i>N,N</i> -Diisopropyl- <i>N</i> -ethylamin
HV	Hochvakuum
<i>i</i> -Pr	<i>iso</i> -Propyl
IR	Infrarot
i.V.	im Vakuum
ITC	Isothermische Kalorimetrie
<i>J</i>	Kopplungskonstante in Hz
M ⁺	Molekülkation
MeOH	Methanol
MHz	Megahertz
MAK	maximal zulässige Arbeitsplatzkonzentration
<i>m/z</i>	Masse/Ladung
<i>neo</i> -Pent	<i>neo</i> -Pentyl / 2,2-Dimethylpropyl
NMM	<i>N</i> -Methylmorpholin
NMR	Nuclear Magnetic Resonance
Ph	Phenyl
Pr	<i>n</i> -Propyl
ψ	Pseudo
rt	Raumtemperatur
Rt	Retentionszeit in Minuten
R.V.	Rotationsverdampfer
SAXS	small-angle X-ray scattering
Suc	Succinsäure / Bernsteinsäure
TAEA	Tris-2-aminoethylamin
^t Bu	<i>tert.</i> -Butyl
TFA	2,2,2-Trifluoressigsäure
TFE	2,2,2,-Trifluorethanol
TIS	Triisopropylsilan
Tris	Tris-hydroxymethylaminomethan
Trt	Triphenylmethyl (Trityl)
WAXS	wide-angle X-ray scattering
1-PrOH	<i>n</i> -Propylalkohol
2-PrOH	<i>iso</i> -Propylalkohol

E Literaturverzeichnis

- [1] Übersichtsartikel: B. List, *Tetrahedron* **2002**, 58, 5573.
- [2] S. Inoue, J.-I. Oku, *J. Chem. Soc., Chem. Commun.* **1981**, 229.
- [3] a) S. M. Iyer, K. M. Gigstad, N. D. Namdev, M. Lipton, *J. Am. Chem. Soc.* **1996**, 118, 4910; b) S. M. Iyer, K. M. Gigstad, N. D. Namdev, M. Lipton, *Amino Acids* **1996**, 11, 259.
- [4] S. Juliá, J. Masana, J. C. Vega, *Angew. Chem. Int. Ed.* **1980**, 19, 929.
- [5] S. J. Miller, G. T. Copeland, N. Papaioannou, T. E. Horstmann, E. M. Ruel, *J. Am. Chem. Soc.* **1998**, 120, 1629-1630.
- [6] a) H. Wennemers, *Comb. Chem. & High Throughput Screening* **2001**, 4, 273-285; b) M. T. Reetz, *Angew. Chem.* **2001**, 113, 292-320; *Angew. Chem. Int. Ed.* **2001**, 40, 312-329; c) S. Dahmen, S. Bräse, *Synthesis* **2001**, 1431-1449; d) B. Jandeleit, D. J. Schaefer, T. S. Powers, H. W. Turner, W. H. Weinberg, *Angew. Chem.* **1999**, 111, 2648-2689; *Angew. Chem. Int. Ed.* **1999**, 38, 2494-2532; e) R. H. Crabtree, *Chem. Commun.* **1999**, 1611-1616; f) K. D. Shimizu, M. L. Snapper, A. H. Hoveyda, *Chem. Eur. J.* **1998**, 4, 1885-1889.
- [7] S. J. Taylor, J. P. Morken, *Science* **1998**, 280, 267-270.
- [8] A. Berkessel, D. A. Hérault, *Angew. Chem.* **1999**, 111, 99-102; *Angew. Chem. Int. Ed.* **1999**, 38, 102-105.
- [9] a) G. T. Copeland, S. J. Miller, *J. Am. Chem. Soc.* **2001**, 123, 6496-6502; b) G. T. Copeland, S. J. Miller, *J. Am. Chem. Soc.* **1999**, 121, 4306-4307.
- [10] a) M. Müller, T. W. Mathers, A. P. Davis, *Angew. Chem.* **2001**, 111, 3929-3931; *Angew. Chem. Int. Ed.* **2001**, 40, 3813-3815; b) R. F. Harris, A. J. Nation, G. T. Copeland, S. J. Miller, *J. Am. Chem. Soc.* **2000**, 122, 11270-11271.
- [11] H. M. Geysen, R. H. Meloen, S. J. Barteling, *Proc. Natl. Acad. Sci. USA* **1984**, 81, 3398.
- [12] S. P. A. Fodor, J. L. Read, M. C. Pirrung, L. Stryer, A. T. Lu, D. Solas, *Science* **1991**, 251, 767.
- [13] R. A. Houghten, C. Pinilla, S. E. Blondelle, J. R. Appel, C. T. Dooley, J. H. Cuervo, *Nature* **1991**, 352, 84.
- [14] A. Furka, F. Sebestyén, M. Asgedom, G. Dibo, *Int. J. Pept. Protein Res.* **1991**, 37, 487.

- [15] K. S. Lam, S. E. Salmon, E. M. Hersh, V. J. Hruby, W. M. Kazmierski, R. J. Knapp, *Nature* **1991**, 354, 82.
- [16] R. Frank, *Tetrahedron* **1992**, 48, 9217.
- [17] H. Han, M. M. Wolfe, S. Brenner, K. D. Janda, *Proc. Natl. Acad. Sci. USA* **1995**, 92, 6419.
- [18] G. Jung, „Combinatorial Chemistry: Synthesis, Analysis, Screening“ WILEY-VCH, **1999**.
- [19] M. Lebl, V. Krchnak, N. F. Sepetov, B. Seligmann, P. Strop, S. Felder, K. S. Lam, *Biopolymers* **1995**, 7, 58.
- [20] a) P. Edmann, *Archives of Biochemistry*, **1949**, 22, 475; b) P. Edmann, *Acta Chim. Scand.* **1950**, 4, 283.
- [21] N. F. Sepetov, O. L. Issakova, M. Lebl, K. Swiderek, D. C. Stahl, T. D. Lee, *Rapid Comm. Mass Spectrom.* **1993**, 7, 58.
- [22] J. Metzger, S. Stevanovic, J. Brünjes, K.-H. Wiesmüller, *Methods* **1994**, 6, 425.
- [23] B. J. Egner, G. L. Langley, M. Bradley, *J. Org. Chem.* **1995**, 60, 2652.
- [24] R. C. Anderson, J. P. Stokes, M. J. Shapiro, *Tetrahedron Lett.* **1995**, 36, 5311.
- [25] J. K. Chen, S. L. Schreiber, *Angew. Chem. Int. Ed.* **1995**, 90, 953.
- [26] S. Brenner, R. A. Lerner, *Proc. Natl. Acad. Sci. USA* **1992**, 89, 5381.
- [27] M. C. Needles, D. G. Jones, E. H. Tate, G. L. Heinkel, L. M. Kochersberger, W. J. Dower, R. W. Barret, M. A. Gallop, *Proc. Natl. Acad. Sci. USA* **1993**, 90, 10700.
- [28] J. M. Kerr, S. C. Banville, R. N. Zuckermann, *J. Am. Chem. Soc.* **1993**, 115, 2529.
- [29] M. H. J. Ohlmeyer, R. N. Swanson, L. W. Dillard, J. C. Reader, G. Asouline, R. Kobayashi, M. Wigler, W. C. Still, *Proc. Natl. Acad. Sci. USA* **1993**, 90, 10922.
- [30] H. P. Nestler, P. A. Bartlet, W. C. Still, *J. Org. Chem.* **1994**, 59, 4723.
- [31] J. K. Chen, W. S. Lane, A. W. Brauer, A. Tanaka, S. L. Schreiber, *J. Am. Chem. Soc.* **1993**, 115, 12591.
- [32] K. S. Lam, J. Wu, *Methods* **1994**, 6, 401.
- [33] C. W. Turk, *Methods* **1994**, 6, 396.
- [34] H. P. Nestler, H. Wennemers, R. Sherlock, D. L.-Y. Dong, *Bioorg. Med. Chem. Lett.* **1996**, 6, 1327.
- [35] P. L. Zhao, R. Zambias, J. A. Bolognese, D. Boulton, K. T. Chapman, *Proc. Natl. Acad. Sci. USA* **1995**, 92, 10212.

- [36] K. Burgess, A. I. Liaw, N. Wang, *J. Med. Chem.* **1994**, 37, 2985.
- [37] P. Krattiger, C. McCarthy, A. Pfaltz, H. Wennemers *Angew. Chem. Int. Ed.* **2003**, 42, 1722.
- [38] a) T. Kamijo, R. Yamamoto, H. Harada, K. Iizuka, *Chemical & Pharmaceutical Bulletin* **1983**, 31, 3724; b) E. R. Jarvo, G. T. Copeland, N. Papaioannou, P. J., Jr. Bonitatebus, S. J. Miller, *J. Am. Chem. Soc.* **1999**, 121, 11638.
- [39] Der Einfluss verschiedener Anzahl Aminocapronsäureeinheiten wurden durch Dr. C. McCarty in der Gruppe von Prof. Dr. A. Pfaltz (Universität Basel) durchgeführt. Dabei konnte kein Einfluss der Linkerlänge auf die Reaktivität festgestellt werden. In allen folgenden Experimenten wurden deshalb je drei Aminocapronsäureeinheiten verwendet.
- [40] Typisches Waschprotokoll: jeweils 2 min. mit je 1 ml, CH₂Cl₂ (3x), DMF (3x), CH₂Cl₂ (3x), CH₂Cl₂ / 10% TFA (3x), CH₂Cl₂ (3x), 2-PrOH / 25% Et₃N (3x), 2-PrOH (3x).
- [41] Die Zugabe eines Acylierungskatalysators wie DMAP führte in beiden Fällen zu roten Harzkügelchen, dies zeigt, dass der Reaktionsunterschied nur durch den Katalysator bedingt ist.
- [42] Verwendete AS: Position 1+3: Gly, L-Ala, D-Val, L-Leu, D-Pro, L-Pro, D-Phe, L-Tyr, D-His, L-His, D-Arg, L-Glu, D-Asp, L-Gln, D-Asn; Position 2+4: Gly, D-Ala, L-Val, D-Leu, L-Pro, D-Pro, L-Phe, D-Tyr, L-His, D-His, L-Arg, D-Glu, L-Asp, D-Gln, L-Asn.
- [43] M. Bodansky, A. Bodansky, *The Practice of Peptide Synthesis*, 2nd Ed.; Springer-Verlag: New York, **1994**.
- [44] P. Krattiger, R. Kovasy, J. Revell, S. Ivan, H. Wennemers, *Org. Lett.* **2005**, 7, 1101-1103.
- [45] a) J. J. March, H. G. Leberer, *TIBS* **1992**, 17, 110. b) W. J. Rutter, *Fed. Proc. Am. Soc. Exp. Biol.* **1964**, 23, 1248. c) Y. C. Lai, N. Nakai, D. Chang, *Science* **1974**, 183, 1204. d) A. J. Morris, D. R. Tolan, *Biochemistry* **1994**, 33, 12291.
- [46] W.-D. Fessner, A. Schneider, H. Held, G. Sinerius, C. Walter M. Hixon, J. D. Schloss, *Angew. Chem., Int. Ed.* **1996**, 35, 2219-2221.
- [47] a) In *Comprehensive Asymmetric Catalysis*; E. N. Jacobsen, A. Pfaltz, H. Yamamoto, Eds., Springer-Verlag, Heidelberg, 1999. b) Mahrwald, R. *Chem. Rev.* **1999**, 99, 1095. c) Gröger, H.; Vogl, E. M.; Shibasaki, M. *Chem.-Eur. J.*

- 1998, 4, 1137. d) Johnson, J. S.; Evans, D. A. *Acc. Chem. Res.* **2000**, 33, 325.
e) Machajewski, T. D.; Wong, C.-H. *Angew. Chem., Int. Ed.* **2000**, 39, 1352.
- [48] a) Z. G. Hajos, D. R. Parrish, *Asymmetric Synthesis of Optically Active Polycyclic Organic Compounds*, German Patent DE 2102623, July 29, **1971**; Z.G. Hajos and D.R. Parrish. *J. Org. Chem.* **1974**, 39, 1615; b) U. Eder, G. Sauer, R. Wiechert, *Angew. Chem. Int. Ed.* **1971**, 10, 496.
- [49] B. List, R. A. Lerner, C. F. Barbas III, *J. Am. Chem. Soc.* **2000**, 122, 2395.
- [50] H. E. Zimmerman, M. D. Traxler, *J. Am. Chem. Soc.* **1957**, 79, 1920.
- [51] Übersichtsartikel: E.R. Jarvo, S. J. Miller, *Tetrahedron* **2002**, 58, 2481-2495; P. I. Dalko, L. Moisan, *Angew. Chem.* **2004**, 116, 5248.
- [52] a) Z. Tang, F. Jiang, L.-T. Yu, X. Cin, L.-Z. Gong, A.-Q. Mi, Y.-Z. Jinag, Y.-D. Wu, *J. Am. Chem. Soc.* **2003**, 125, 5362; b) Z. Tang, Z.-H. Yang, L. F. Cun, L.-Z. Gong, A.-Q. Mi, Y.-Z. Jiang, *Org. Lett.* **2004**, 13, 2285.
- [53] a) H. Torii, M. Nadakadai, K. Ishihara, S. Saito, H. Yamamoto, *Angew. Chem.* **2004**, 116, 2017; *Angew. Chem. Int. Ed.* **2004**, 43, 1983; b) A. J. A. Cobb, D. M. Shawn, S. V. Ley, *Synlett* **2004**, 3, 558; c) A. Hartikka, P. I. Arvidsson, *Tetrahedron: Assymetry* **2004**, 15, 1831.
- [54] B. Koch, J. Lex, A. Berkessel, *Adv. Synth. Catal.* **2004**, 346, 1141.
- [55] J. Kofoed, J. Nielsen, J.-L. Reymond, *Bioorg. Med. Chem. Lett.* **2003**, 13, 2445.
- [56] T. S. Hague, J. C. Little, S. H. Gellman, *J. Am. Chem. Soc.* **1996**, 118, 6975.
- [57] a) B. List, R. A. Lerner, C.-F. Barbas III, *J. Am. Chem. Soc.* **2000**, 122, 2395-2396; b) S. Bahmanyar, K. N. Houk, Harry J. Martin, and Benjamin List, *J. Am. Chem. Soc.* **2003**, 125, 2475-2479; c) L. Hoang, S. Bahmanyar, K. N. Houk und B. List, *J. Am. Chem. Soc.* **2002**, 125, 16-17; d) K. Sakthivel, W. Notz, T. Bui, C.-F. Barbas III, *J. Am. Chem. Soc.* **2001**, 123, 5260-5267; e) H. E. Zimmerman, M. D. Traxler, *J. Am. Chem. Soc.* **1957**, 79, 1920-1923.
- [58] Unerwarteterweise wurde bei der Verwendung des TFA-Salzes der Peptide bei Reaktionen von aliphatischen Aldehyden ein Hauptprodukt erhalten, welches nicht das Aldolprodukt ist. Die Aufklärung der unterschiedlichen Mechanismen wird durch Dr. J. Revell fortgesetzt.
- [59] F. Mohamadi, N. G. J. Richards, W. C. Guida, R. Liskamp, M. Lipton, C. Caufield, G. Chang, T. Hendrickson, W. C. Still, *J. Comp. Chem.* **1990**, 11, 440.

- [60] a) F. Gasparrini, D. Misiti, W. C. Still, C. Villani, H. Wennemers, *J. Org. Chem.* **1997**, *62*, 8221; b) F. Gasparrini, D. Misiti, C. Villani, A. Borchardt, M. T. Burger, W. C. Still, *J. Org. Chem.* **1995**, *60*, 4314.
- [61] Übersichtsartikel: a) J. J. Lavigne, E. V. Anslyn, *Angew. Chem. Int. Ed.* **2001**, *40*, 3118; b) M. W. Peczu, A. D. Hamilton, *Chem. Rev.* **2000**, *100*, 2479.
- [62] J. W. Lörger, C. Kreutz, P. Krattiger, H. Wennemers, J. Bargon, *Sensors and Actuators, B: Chemical*, **2005**, *107*, 366.
- [63] a) W. C. Still, *Acc. Chem. Res.* **1996**, *29*, 155; b) C. Gennari, H. P. Nestler, U. Piarulli, B. Salom, *Liebigs Ann./Recueil* **1997**, 637.
- [64] a) H. Wennemers, S. S. Yoon, W. C. Still, *J. Org. Chem.* **1995**, *60*, 1108-1109; b) M. Torneiro, W. C. Still, *J. Am. Chem. Soc.* **1995**, *117*, 5887; c) Y. Shao, W. C. Still, *J. Org. Chem.* **1996**, *61*, 6086; d) Z. Pan, W. C. Still, *Tetrahedron Lett.* **1996**, *37*, 8699.
- [65] a) R. C. Boyce, G. Li, H. P. Nestler, T. Suenaga, W. C. Still, *J. Am. Chem. Soc.* **1994**, *116*, 7955; b) Y. Cheng, T. Suenaga, W. C. Still, *J. Am. Chem. Soc.* **1996**, *118*, 1813; c) H. Hioki, T. Yamada, C. Fujioka, M. Kodama, *Tetrahedron Lett.* **1999**, *40*, 6821; d) H. De Muynck, A. Madder, N. Farcy, P.J. De Clercq, M.N. Pérez-Payán, L.M. Öhberg, A.P. Davis, *Angew. Chem.* **2000**, *112*, 149; *Angew. Chem. Int. Ed. Engl.* **2000**, *39*, 145.
- [66] a) C. Gennari, H. P. Nestler, B. Salom, W. C. Still, *Angew. Chem.* **1995**, *107*, 1894; *Angew. Chem. Int. Ed. Engl.* **1995**, *34*, 1765; b) D. W. P. M. Löwik, M. D. Weingarten, M. Broekema, A. J. Brouwet, W. C. Still, R. M. J. Liskamp, *Angew. Chem.* **1998**, *110*, 1947; *Angew. Chem. Int. Ed. Engl.* **1998**, *37*, 1846; c) D. W. P. M. Löwik, S. J. E. Mulders, Y. Cheng, Y. Shao, R. M. J. Liskamp, *Tetrahedron Lett.* **1996**, *37*, No. 45, 8253.
- [67] a) M. Bonnat, M. Bradley, J. D. Kilburn, *Tetrahedron Lett.* **1996**, *37*, No. 30, 5409; b) M. Davies, M. Bonnat, F. Guillier, J. D. Kilburn, M. Bradley, *J. Org. Chem.* **1998**, *63*, 8696; c) T. Fessmann, J.D. Kilburn, *Angew. Chem.* **1999**, *111*, 2170; *Angew. Chem. Int. Ed. Engl.* **1999**, *38*, 1993; d) T. Braxmeier, M. Demarcus, T. Fessmann, S. McAteer, J. D. Kilburn, *Chem. Eur. J.* **2001**, *7*, 1889; e) E. Botana, S. Onger, R. Arienzo, M. Demarcus, J. G. Frey, U. Piarulli, D. Potenza, J. D. Kilburn, C. Gennari, *Eur. J. Org. Chem.* **2001**, 4625; f) R. Arienzo, J. D. Kilburn, *Tetrahedron* **2002**, *58*, 711; g) E. Botana, S. Onger, M. Demarcus, J. G. Frey, U. Piarulli, D. Potenza, C. Gennari, J. D. Kilburn, *Chem.*

- Commun.* **2001**, 1358; h) K. B. Jensen, T. M. Braxmeier, M. Demarcus, J. G. Frey, F. D. Kilburn, *Chem. Eur. J.* **2002**, 8, 1300.
- [68] a) H. Wennemers, M. Conza, M. Nold, P. Krattiger, *Chem. Eur. J.* **2001**, 7, 3342; b) M. Conza, H. Wennemers, *J. Org. Chem.* **2002**, 67, 2696-2698; c) H. Wennemers, M. C. Nold, M. M. Conza, K. J. Kulicke, M. Neuburger, *Chem. Eur. J.* **2003**, 9, 442; d) M. Conza, H. Wennnemers, *Chem. Commun.* **2003**, 7, 866.
- [69] P. Krattiger, H. Wennemers, *Synlett* **2005**, 4, 706.
- [70] www.wikipedia.org, 2005.
- [71] a) S. L. Wiskur, J. J. Lavigne, A. Metzger, S. L. Tobey, V. Lynch, E. V. Anslyn, *Chem. Eur. J.* **2004**, 10, 3792; b) R. J. Fitzmaurice, G. M. Kyne, D. Douheret, J. D. Kilburn, *J. Chem. Soc. Perkin Trans 1* **2002**, 841-864.
- [72] B. Dietrich, D. L. Fyles, T. M. Fyles, J. M. Lehn, *Helv. Chim. Acta* **1979**, 62, 2763-2787.
- [73] C. L. Hannon, E. V. Anslyn, *Bioorg. Chem. Front.* **1993**, 3, 193-255.
- [74] a) M. Berger, F. P. Schmidtchen, *J. Am. Chem. Soc.* **1999**, 121, 9986-9993; b) M. Berger, F. P. Schmidtchen, *Angew. Chem.* **1998**, 110, 2840-2842; *Angew. Chem. Int. Ed.* **1998**, 37, 2694-2696; c) A. Metzger, K. Gloe, H. Stephan, F. P. Schmidtchen, *J. Org. Chem.* **1996**, 61, 2051-2055; d) P. Schiessl, F. P. Schmidtchen, *Tetrahedron Lett.* **1993**, 34, 2449-2452.
- [75] M. Nold, H. Wennemers, *Chem. Commun.* **2004**, 16, 1800-1801.
- [76] Mit mehrere Hundert Kristallisationsansätze mit Hilfe der „hanging drop“ Methode konnten bislang keine Kristalle erhalten werden. Diese Experimente wurden in Zusammenarbeit mit Dr. B. Spingler an der Universität Zürich durchgeführt.
- [77] Die beschriebenen Komplexierungen, wie auch die Untersuchungen der physikalischen Eigenschaften der Komplexe wurden am Max-Planck Institut Golm, Deutschland, durch Dr. Charl F.J. Faul durchgeführt.
- [78] P. Krattiger, C. F. J. Faul, H. Wennemers, *Manuskript eingereicht*.
- [79] Equimolare Mengen Tensid bedeutet ein Equivalent Ammonium-Tensid pro Carbonsäure des Rezeptors.
- [80] G. Garnweitner, B. Smarsly, R. Assink, W. Ruland, E. Bond, C. J. Brinker, *J. Am. Chem. Soc.* **2003**, 125, 5626.

- [81] Die Nachfolgenden Experimente wurden in Zusammenarbeit mit Dr. J. W. Loergen, C. Kreutz und Prof. Dr. J. Bargon an der Universität Bonn, Deutschland, durchgeführt.
- [82] G. Sauerbrey, *Z. Phys.* **1959**, *155*, 206-222.
- [83] J. Bargon, et. al., *Sens. Actuators B* **2000**, *67*, 219-226.
- [84] J. W. Loergen, Diplomarbeit, Universität Bonn, 2001.
- [85] F. L. Dickens, *Chem. unserer Zeit*, **1992**, *26*, 138-143.
- [86] U. Herrmann, T. Jonischkeit, J. Bargon, U. Hahn, Q.-Y. Li, C. A. Schalley, E. Vogel, F. Fögtle, *Anal. Bioanal. Chem.* **2002**, *372*, 611-614.
- [87] a) I. Langmuir, *J. Am. Chem. Soc.* **1918**, *40*, 1361; b) S. Brunauer, P. H. Emmet, E. Teller, *J. Am. Chem. Soc.* **1938**, *60*, 309-319.
- [88] Maximale Arbeitsplatz Konzentrationen, Schweizerische Unfallversicherungsanstalt, SUVA, www.itsp1.suva.ch/sap/its/mimes/waswo/99/pdf/01903-d.pdf, 2005.
- [89] J. W. Loergen, Dissertation, Universität Bonn, 2004.
- [90] E. Kaiser, R. L. Colescott, C. D. Bossinger, P. I. Cook, *Anal. Biochem.* **1970**, *34*, 595-598.
- [91] Merck-Biosciences (NovaBiochem) Katalog **2003**, Methode 3-6.
- [92] J. Zhang, *Tetrahedron Lett.* **2001**, *42* (21), 3599-3601.
- [93] C.W. Lindsley, *Tetrahedron Lett.* **2002**, *43*, 4467-4470; M. Vaultier, *Tetrahedron Lett.* **1983**, *24* (8), 763.
- [94] Wissner *J. Org. Chem.* **1978**, *43*, 20, 3972.
- [95] P. J. De Clercq, *Eur. J. Org. Chem.* **1999**, 2787-2791.

F Anhang

20. Sequenzen der kombinatorischen Experimente

20.1 Gefundene Sequenzen in den Assays der Acylierungsbibliotheken mit dem farbstoffmarkierten Aktivester 6

Tripeptid-Bibliothek

AS 3	AS 2	AS 1
L-Leu	L-Phe	L-His
L-Tyr	L-Val	L-His
D-Pro	L-Pro	L-His
L-Pro	D-Pro	D-His
D-Pro	D-His	D-His
D-Pro	L-His	L-His
L-Leu	D-His	L-His
L-Pro	L-His	L-Tyr
D-Pro	L-His	L-Tyr
L-His	D-His	D-Val
D-His	D-His	D-Val
D-His	L-Asn	D-Asp
D-His	L-Asn	L-Tyr
L-His	L-Asp	D-Asn
D-His	L-Phe	L-Leu
L-His	D-His	D-His
D-His	L-His	L-His

Dipeptid-Bibliothek

AS 2	AS 1
D-Tyr	D-Arg
L-Asn	D-Asn
L-Asn	D-Asn
D-Ala	D-His
D-Arg	L-His
D-His	L-His
D-His	L-His
D-His	L-His
L-His	D-His
L-His	D-His
L-His	L-His
D-His	L-Pro

20.2 Gefundene Sequenzen in den Assays der Aldolbibliothek 23 mit dem farbstoffmarkierten Benzaldehydderivat 24

DMF

AS 3	AS 2	AS 1
L-Pro	L-Asp	L-Ala
L-Pro	D-Glu	D-Asp
L-Pro	D-Gln	D-Asp
L-Pro	D-Pro	D-Asp
L-Pro	D-Pro	D-Asp
D-Pro	D-Pro	D-Asp
D-Pro	D-Pro	D-Asp
D-Pro	L-Val	D-Asp
L-Pro	D-Leu	D-Asp
L-Pro	D-Leu	D-Asp
Gly	L-Arg	L-Glu
Gly	D-Pro	D-Asp
L-Pro	L-Asp	D-Asp
L-Pro	D-Pro	D-Asp
D-Pro	L-Pro	D-Asp
D-Pro	D-Pro	L-Glu
D-Pro	L-Pro	D-Pro
D-Pro	L-Pro	L-Pro
D-Pro	L-Pro	L-Leu
D-Pro	L-Arg	L-Leu
D-Pro	L-Arg	D-Pro
D-Pro	L-Arg	L-Pro
D-Pro	L-Arg	L-Gln
L-Pro	L-Arg	L-Glu
D-Pro	L-Arg	D-Asp

MeOH

AS 3	AS 2	AS 1
D-Phe	D-Tyr	D-Asp
D-Pro	L-Phe	D-Asp
L-Pro	D-Leu	D-Asp
L-Pro	Gly	D-Asp
D-Pro	Gly	D-Asp
D-Pro	Gly	L-Glu
D-Pro	Gly	L-Tyr
D-Pro	L-Asp	L-Glu
L-Pro	D-Ala	D-Asp
L-Pro	D-Ala	D-Asp
L-Pro	D-Ala	D-Asp
L-Pro	D-Ala	D-Asp
L-Pro	D-Tyr	L-Glu
L-Pro	D-Tyr	D-Asp
L-Pro	D-Tyr	D-Asp
L-Pro	D-His	D-Asp
D-Pro	L-Arg	L-Glu
L-Pro	D-Gln	Gly

20.3 Gefundene Sequenzen in den Assays der Tripeptidbibliothek 55 mit den wasserlöslichen Rezeptoren 39-41

20.3 a) Sequenzen von 55 mit Rezeptor 39

0.01M Tris-HCl (pH 7.2)

AS 3	AS 2	AS 1
Gly	D-Arg	D-Ala
L-Thr	D-Arg	L-Arg
D-Arg	L-Arg	D-Arg
L-Arg	L-Asn	L-Arg
L-Arg	D-Asn	D-Arg
L-Arg	L-Arg	D-Asn
L-Arg	D-Arg	L-Ser
D-Arg	L-Arg	D-Thr
D-Arg	D-Thr	D-Arg
L-Arg	L-Thr	D-Arg
D-Cys	L-Arg	D-Ala
D-Arg	D-Arg	L-Ala
D-Arg	L-Arg	L-Arg

0.01M NaOH (pH 12)

AS 3	AS 2	AS 1
L-Arg	L-Arg	D-Arg
D-Arg	L-Arg	L-Arg
D-Arg	L-Arg	D-Arg
D-Arg	L-Arg	D-Arg
D-Arg	L-Arg	L-Thr
L-Arg	D-Arg	D-Thr
L-Arg	L-Arg	D-Ser
L-Arg	D-Arg	D-Ser
D-Arg	D-Arg	L-Cys
D-Arg	D-Arg	D-Arg
L-Arg	D-Arg	L-Arg
D-Arg	L-Arg	L-Arg
L-Arg	L-Arg	D-Arg
L-Arg	L-Arg	D-Ala
D-Arg	L-Arg	L-Ser
L-Arg	L-Arg	D-Ser
D-Arg	D-Arg	L-Thr
D-Arg	D-Arg	D-Thr
D-Arg	D-Arg	D-Thr

20.3 b) Sequenzen von 55 mit Rezeptor 40

0.01M Tris-HCl (pH 7.2)

AS 3	AS 2	AS 1
D-Arg	L-Val	D-Arg
D-Arg	L-Arg	L-Val
D-Arg	L-Arg	D-Arg
L-Arg	D-Arg	D-Arg
D-Pro	L-Arg	D-Arg
D-Pro	D-Arg	L-Arg
D-Lys	D-Gln	L-Arg

0.01M NaOH (pH 12)

AS 3	AS 2	AS 1
L-Ala	L-Arg	D-Arg
D-Cys	L-Arg	D-Arg
D-Ser	L-Pro	D-Arg
D-Arg	D-Arg	D-Arg
L-Arg	L-Arg	D-Ala
D-Arg	L-Arg	L-Val
D-Arg	L-Arg	D-Ser
L-Arg	L-Arg	D-Arg
D-Arg	L-Arg	L-Arg
D-Arg	D-Arg	D-Arg
D-Arg	D-Leu	L-Arg
L-Arg	D-Leu	L-Arg
L-Leu	L-Arg	D-Arg
D-Arg	D-Arg	L-Val
L-Arg	D-Arg	D-Ser
L-Arg	D-Arg	L-Thr
D-Arg	L-Cys	L-Arg

20.3 c) Sequenzen von 55 mit Rezeptor 41

0.01M Tris-HCl (pH 7.2)

AS 3	AS 2	AS 1
L-Arg	L-Arg	L-Pro
D-Arg	L-Arg	D-Ser
D-Arg	D-Ser	L-Arg
L-Arg	D-Asp	D-Arg

0.01M NaOH (pH 12)

AS 3	AS 2	AS 1
L-Arg	D-Ser	L-Arg
D-Arg	L-Thr	L-Arg
D-Arg	L-Thr	L-Arg
D-Arg	D-Thr	L-Arg
L-Arg	D-Cys	D-Arg
D-Arg	L-phe	D-Arg
D-Arg	D-Lys	D-Arg
L-Arg	L-Lys	D-Arg
L-Arg	D-Lys	L-Lys
L-Lys	L-Arg	L-Arg
L-Pro	L-Arg	D-Cys
L-Ala	D-Arg	L-Arg
L-Ala	D-Arg	L-Arg
D-Gln	L-Arg	D-Arg
D-Arg	L-Arg	Gly

Lebenslauf

Philipp Krattiger

Geboren: 31. Oktober 1975
Geburtsort: Binningen, BL
Bürgerort: Oberdorf, BL
Familienstand: ledig

Akademischer Werdegang:

Januar 1996	Matur am Gymnasium Liestal, Typus C (Mathematik)
Juni 1996	Immatrikulation an der Universität Basel, Studienfach Chemie, Diplom
März 1998	1. Vordiplom
Oktober 1998	2. Vordiplom
Oktober 2000	Diplomprüfung
Okt. 2000 – Feb. 2001	Diplomarbeit in der Gruppe von Prof. Dr. Helma Wennemers, Universität Basel. Thema: "Wasserlösliche Diketopiperazinrezeptoren"
Februar 2001	Erlangen des akademischen Grades "Diplom Chemiker"
März 2001 – Feb. 2005	Promotion in der Gruppe von Prof. Dr. Helma Wennemers, Universität Basel. Thema: "Peptide – asymmetrische Organokatalyse und molekulare Erkennung"
ab Mai 2005	Postdoc-Aufenthalt in der Gruppe von Prof. Stephen L. Buchwald am Massachusetts Institute of Technology, Cambridge, Massachusetts, USA.

Folgende Professoren haben zu meiner Ausbildung beigetragen:

E. Constable, B. Giese, H. Huber, T. Kaden, J. Maier, W. Meier, M. Neuburger-Zehnder, M. Oehme, A. Pfaltz, U. Séquin, H. Sigel, H. Wennemers, H. Wirz, W. Woggon, A. Zuberbühler.

Dipl. Chem. Philipp Krattiger

Eidesstattliche Erklärung

Ich erkläre, dass ich die Dissertation mit dem Titel:

**Peptide - asymmetrische Organokatalyse
und molekulare Erkennung**

nur mit der darin angegebenen Hilfe verfasst und bei keiner
anderen Universität und keiner anderen Fakultät der Universität
Basel eingereicht habe.

Basel, den 08. Februar 2005

(Philipp Krattiger)